

**VYSOKÁ ŠKOLA BÁŇSKÁ –
TECHNICKÁ UNIVERZITA OSTRAVA**

Hornícko – geologická fakulta

Institut environmentálního inženýrství

**SUBSTRÁTY A JEJICH VYUŽITÍ
V BIOPLYNOVÝCH STANICÍCH**

Usefull Substrate for the Biogas Units

Diplomová práce

Autor:

Bc. Renáta Janouchová

Vedoucí diplomové práce:

prof. Ing. Dagmar Juchelková, Ph.D.

Ostrava 2012

Zadání diplomové práce

Student:

Bc. Renáta Janouchová

Studijní program:

N2102 Nerostné suroviny

Studijní obor:

3904T029 Minerální biotechnologie

Téma:

Substráty a jejich využití v bioplynových stanicích
Usefull Substrate for the Biogas Units

Zásady pro vypracování:

Proveďte návrh možností využívání substrátů v bioplynové stanici, včetně očekávaných dopadů na digestáty.

Průměrná produkce bioplynové stanice je max. 10 000 m³ bioplynu za den.

Bioplynová stanice bude provozovat energetickou centrálu s vyžitím bioplynu v kogeneračních jednotkách a teplovodních kotlích.

Práce bude obsahovat:

1. Rešeršní práce na téma využívání bioplynu.
2. Výpočet plynu na bázi bioplynu, případě směsi bioplyn + zemní plyn pro různé složení bioplynu.
3. Návrhy složení vstupních substrátů a odhad ovlivnění výstupů.
4. Celkové technologické schéma bioplynové stanice včetně energetické centrály.

Seznam doporučené odborné literatury:


- [1] SCHULZ, H., EDER, B. *Bioplyn v praxi*. Nakladatelství HEL, Ostrava 2004.
- [2] KRBEK, J., POLESNÝ, B. *Malé kogenerační jednotky v komunální a průmyslové energetice*. PC-DIR Real, s.r.o. Brno 1999.
- [3] *Odborná firemní literatura*.

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.


Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. Dagmar Juchelková, Ph.D.**

Datum zadání: 31.10.2011

Datum odevzdání: 30.04.2012


prof. Ing. Vojtech Dirner, CSc.
vedoucí institutu




prof. Ing. Vladimír Slivka, CSc., dr.h.c.
děkan fakulty

Prohlášení

Prohlašuji, že

- celou diplomovou práci včetně příloh, jsem vypracovala samostatně a uvedla jsem všechny použité podklady a literaturu
- byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. - autorský zákon, zejména § 35 – využití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a využití díla školního a § 60 – školní dílo
- beru na vědomí, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB – TUO) má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě diplomovou práci užít (§ 35 odst. 3)
- souhlasím s tím, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen v Ústřední knihovně VŠB – TUO k prezenčnímu nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího diplomové práce. Souhlasím s tím, že údaje o diplomové práci, obsažené v Záznamu o závěrečné práci, umístěném v příloze mé diplomové práce, budou zveřejněny v informačním systému VŠB – TUO
- Souhlasím s tím, že diplomová práce je licencována pod Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 Unported licencí. Pro zobrazení kopie této licence, je možno navštívit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>
- bylo sjednáno, že s VŠB – TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona
- bylo sjednáno, že užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB – TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB – TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše)

V Ostravě

29.4.2012

Renáta Janouchová

Bc. Renáta Janouchová

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí mé diplomové práce paní prof. Ing. Dagmar Juchelkové, Ph.D. za odbornou pomoc a čas při psaní této diplomové práce.

Dále bych ráda poděkovala laborantkám paní Bc. Janě Sýkorové a paní Ing. Silvii Bielešzové za rady a odbornou pomoc při práci v laboratořích.

Rovněž bych chtěla poděkovat pánům Mieczyslawu Molendovi, Petru Padisákovi a Ing. Petru Středulovi za poskytnutí informací a vzorků k realizaci experimentů této diplomové práce.

Tato práce byla podpořena projektem OP VaVpi CZ.1.05/2.1.00/03.0069 ENET - Energetické jednotky pro využití netradičních zdrojů energie.

Anotace

Tato diplomová práce je zaměřena na problematiku bioplynových stanic a intenzifikaci procesu tvorby bioplynu.

V teoretické části je vypracována rešerše na téma bioplynových stanic v ČR a ve vybraných státech EU. Dále se tato práce zabývá procesem anaerobní digesce (fermentace) a faktory ovlivňujícími tento proces, např. mikroorganismy, teplota, pH, živiny a inhibitory. Také jsou zde uvedeny vlastnosti a možnosti využití bioplynu.

Praktická část je zaměřena na intenzifikaci procesu tvorby bioplynu, která je mimo jiné ovlivněna předúpravou surovin. V této práci je využita biotechnologická metoda využívající anaerobní houby. K experimentům byla použita bachorová kultura velkých přežvýkavců *Anaeromyces mucronatus*.

Klíčová slova: anaerobní digesce, fermentace, bioplynová stanice, bioplyn, metan, intenzifikace, *Anaeromyces mucronatus*

Abstract

This thesis is focused on the biogas plants and intensification of the biogas production process.

The theoretical part is written on the subject of research of the biogas plants in CR and in selected countries of EU. Furthermore, this work examines the process of anaerobic digestion (fermentation) and the factors influencing this process, such as microorganisms, temperature, pH, nutrients and inhibitors. There are also the properties and potential use of biogas.

The practical part is focused on the intensification of the biogas production process, which is among others influenced by the pre adjustment of raw materials. The biotechnological method using anaerobic fungi is used in this thesis. For the experimental purposes was used the rumen culture of big ruminants - *Anaeromyces mucronatus*.

Keywords: anaerobic digestion, fermentation, biogas plant, biogas, methane, intensification, *Anaeromyces mucronatus*

Obsah

1. ÚVOD	1
2. CÍLE	3
3. BIOPLYNOVÉ STANICE V ČR A ZAHRANIČÍ.....	4
3.1 Česká republika	4
3.2 Rakousko.....	5
3.3 Švédsko	6
3.4 Německo	7
3.5 Švýcarsko	7
4. SUBSTRÁTY	8
4.1 Substráty vhodné pro anaerobní digesci	8
4.1.1 Hospodářské exkrementy	9
4.1.2 Zbytky ze sklizně a zahradní odpady	9
4.1.3 Energetické plodiny	9
4.1.4 Ostatní zemědělské suroviny	10
4.1.5 Odpady pro výrobu bioplynu.....	10
4.1.6 Aditiva	10
4.2 Složení substrátu	11
4.3 Lignocelulózové materiály.....	12
4.3.1 Celulóza.....	13
4.3.2 Hemicelulóza	13
4.3.3 Lignin	14
4.3.4 Inhibitory	15
4.3.5 Živiny	17

5. FERMENTACE.....	18
5.1 Suchá fermentace	22
5.2 Mokrá fermentace	25
5.3 Reaktory	28
5.3.1 Fermentory pro mokrou fermentaci.....	29
5.4 Reaktorové procesy	31
5.4.1 Jednostupňový proces.....	31
5.4.2 Dvoustupňový proces	31
5.5 Faktory ovlivňující fermentaci	32
5.5.1 Zatížení fermentoru a doba zdržení	32
5.5.2 Mikroorganismy	32
5.5.3 Teplota	33
5.5.4 Míchání.....	33
5.5.5 pH	34
5.5.6 Anaerobní prostředí	34
5.5.7 Živiny	34
5.5.8 Inhibitory	35
5.6 Bioplyn.....	36
5.6.1 Složení bioplynu	36
5.6.2 Vlastnosti bioplynu.....	37
5.6.3 Výnos bioplynu	38
5.7 Úprava a využití bioplynu	40
5.7.1 Čištění bioplynu.....	40
5.7.2 Kombinovaná výroba tepla a elektřiny – kogenerace	42
5.7.3 Tepelné využití bioplynu	42

5.7.4	Trigenerace	42
5.7.5	Injektáž do sítě zemního plynu	43
5.7.6	Pohonné hmoty pro motorová vozidla	43
5.7.7	Digestát jako hnojivo	44
6.	APLIKACE TRAVNÍ HMOTY V BIOPLYNOVÉ STANICI	45
6.1	Metody předúpravy surovin	45
6.1.1	Mechanické metody	45
6.1.2	Chemické metody	45
6.1.3	Fyzikální metody	46
6.1.4	Biotechnologické metody	46
6.2	Laboratorní zázemí	48
6.2.1	Experimentální zařízení	49
6.2.2	Prováděné rozborů	52
6.3	Realizace experimentů	53
6.3.1	Experiment č. 1	55
6.3.2	Experiment č. 2	58
6.3.3	Experiment č. 3	60
6.3.4	Experiment č. 4	63
6.4	Vyhodnocení	65
7.	ZÁVĚR	67
	POUŽITÁ LITERATURA	69
	SEZNAM TABULEK	85
	SEZNAM OBRÁZKŮ	86

Seznam zkratek:

AV – Akademie věd

BPS – Bioplynová stanice

CNG – Stlačený zemní plyn

CHSK – Chemická spotřeba kyslíku

IGI – Institut geologického inženýrství

KVET – Kombinovaná výroba elektřiny a tepla

NL – Nerozpuštěné látky

OZE – Obnovitelné zdroje energie

RL – Rozpuštěné látky

TOC – Celkový organický uhlík

VŠB – TUO – Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava

1. Úvod

Obnovitelné zdroje energie jsou v současné době velmi diskutovaným tématem. V roce 2007 byl stanoven závazný cíl pro Evropskou unii (EU) vyrábět 20 % veškeré energie spotřebované v EU z obnovitelných zdrojů do roku 2020. Česká republika se zavázala do roku 2020 vyrábět 13 % energie z obnovitelných zdrojů.

Velmi významným zdrojem energie se jeví bioplyn. V našich podmínkách má na rozdíl od solární a větrné energie relativně konstantní výkon. Ačkoliv bioplyn není schopen zcela nahradit fosilní zdroje energie, má vysoký potenciál pro budoucí využití. Bioplyn lze využít k vytápění, chlazení, výrobě elektrické energie a po vyčištění jej lze využít jako pohonné hmoty. Dá se tedy říct, že jej lze využít všude tam, kde se používá fosilní zemní plyn (metan).

V současné době dochází k prudkému rozvoji bioplynových stanic, jejichž hlavním cílem je výroba energeticky cenného paliva – bioplynu. Jejich předností je, že zpracovávají nejen cíleně pěstovanou biomasu, ale i biologicky rozložitelné odpady ze zemědělství, průmyslu i domácností, které by jinak často skončily nevyužité na skládkách. Zároveň dochází k ničení choroboplodných zárodků a patogenů obsažených v odpadu. Využití těchto odpadů v bioplynových stanicích je výhodné i z ekologického hlediska. Některé nevyužité odpady by jinak zůstaly ležet ladem a volně vznikající metan by unikl do ovzduší, čímž by docházelo ke zvyšování skleníkového efektu. Odpadní produkt bioplynových stanic lze využít jako hnojivo v zemědělství.

Při studiu jsem se setkala s problematikou bioplynových stanic a fermentace, ve které vidím vysoký potenciál. Proto jsem se rozhodla svou diplomovou práci zaměřit na téma fermentačních procesů v bioplynových stanicích. Z tohoto důvodu jsem se setkala se zástupci firem Gascontrol, společnost s r.o. a Fermgas, a.s. Tyto firmy navrhly několik témat, ze kterých jsem si vybrala intenzifikaci tvorby bioplynu ve stávajících bioplynových stanicích.

Intenzifikace tvorby bioplynu závisí především na předúpravě surovin a na vhodné skladbě substrátu ve smyslu vstupních surovin. Základem každého substrátu jsou hospodářské exkrementy (keřda, hnůj) nebo kaly z čistíren odpadních vod, které jsou

pro svůj přirozený obsah anaerobních bakterií vhodným startovacím médiem pro anaerobní digesci. Protože tyto suroviny samy o sobě nevedou k vysoké výtěžnosti bioplynu, uplatňuje se kofermentace, což je zpracování hospodářských exkrementů společně s dalšími organickými materiály. Těmito materiály mohou být jak energetické plodiny, tak i různé druhy biologicky rozložitelných odpadů.

2. Cíle

Na základě poptávky firem Gascontrol, společnost s.r.o. a Fermgas, a.s a po konzultaci s vedoucí diplomové práce byl stanoven následující cíl:

Intenzifikace tvorby bioplynu na základě optimálních vlastností substrátů ve stávajících bioplynových stanicích.

- Vzhledem ke studovanému oboru a zkušenostem získaných během studia jsem se rozhodla hledat řešení v biotechnologických metodách.

Pro zajištění tohoto cíle jsem zvolila následující postup:

- Vypracování rešerše na zadané téma se zaměřením na biotechnologické metody.
- Výběr vhodné biotechnologické metody a mikrobiologické kultury.
- Zajištění vzorků z vybraných bioplynových stanic.
- Vstupní analýzy vzorků.
- Kontrola probíhajících procesů a průběžné měření množství a vybraných složek vznikajícího bioplynu.
- Výstupní analýzy vzorků.
- Teoretické výpočty produkce bioplynu a jejich srovnání s výsledky experimentů.
- Vyhodnocení.

3. Bioplynové stanice v ČR a zahraničí

Bioplynové stanice jsou v evropských zemích již velmi rozšířené. Největší zkušenosti s technologií výroby bioplynu má sousední Německo a v dnešní době při jejich odklonu od jaderné energie zažívá výstavba bioplynových stanic nový boom. Ale i v dalších státech EU se nachází zajímavé instalace bioplynových stanic a využití bioplynu. I Česká republika má několik unikátů.

3.1 Česká republika

Česká republika zažívá v posledních letech největší rozmach bioplynových stanic. Na počátku roku 2012 (stav k 15. 2.) bylo v ČR 327 bioplynových elektráren s instalovaným výkonem 224 MW. [1] Podíl bioplynu na obnovitelných zdrojích energie (OZE) za rok 2011 dosahoval 11,1 % což je o 0,9 % více než v roce 2010. Celková výroba elektřiny z bioplynu v roce 2011 dosáhla 868 GWh. [2] Podle informací od regionálních distribučních společností se má na konci roku 2012 dosáhnout výkonu 423 MW, čímž by překročil instalovaný výkon bioplynových stanic hodnot stanovených Národním akčním plánem pro OZE pro rok 2020. [3] Celkový výkon bioplynových stanic podle výhledu akčního plánu je uveden v tabulce č. 3.1.

Tabulka č. 3.1: Celkový výkon bioplynových stanic podle výhledu akčního plánu [3]

Rok	Výkon (MW)	Výkon (GWh)
2005	36	161
2010	113	624
2011	147	848
2012	177	1 084
2013	207	1 308
2014	237	1 531
2015	267	1 754
2016	297	1 978
2017	327	2 201
2018	357	1 425
2019	387	2 648
2020	417	2 817

Z hlediska využití bioplynu je zajímavé město Třeboň, které má hned několik unikátů v této oblasti. V roce 1974 byla uvedena do provozu nejstarší bioplynová stanice v ČR, která je doposud v provozu. Jedná se o čistírnu odpadních vod zpracovávající práceí kejdou společně s městskými odpadními vodami. [4] V roce 2009 byla postavena nová BPS, ze které vede první bioplynovod v ČR do bioteplárny u lázní Aurora, ve kterých je bioplyn využíván k ohřevu užitkové vody, bazénů, vytápění apod. [5]

V České republice máme i další unikát, i když historický. V roce 2006 byla ve Velkém Karlově u Znojma uvedena do provozu BPS, která byla ve své době největší bioplynovou stanicí v Evropě. [6]

3.2 Rakousko

V prvním čtvrtletí roku 2011 bylo v Rakousku v provozu 362 bioplynových stanic, s celkovým výkonem 104,1 MW, přičemž průměrný výkon nově vybudovaných zařízení vzrostl mezi léty 2004 – 2008 z 30 kW_{el} na 250 kW_{el}. [7] Většina těchto BPS je uzpůsobena na kogenerační výrobu elektrické energie a tepla. [8]

V roce 2005 byla uvedena do provozu první zařízení pro čištění a úpravu bioplynu na biometan. V současné době má Rakousko 8 těchto stanic, které dodávají biometan do distribuční soustavy. Jejich produkční kapacita je 1 100 Nm³/hodina (9 636 000 Nm³/rok). [9] Dále má 3 zařízení pro čištění a úpravu bioplynu, které nedodávají biometan do distribuční soustavy, ale fungují jako veřejné tankovací stanice. Dále je v plánu výstavba mikrosítě, do které bude dodáván biometan z místních zařízení. [10]

3.3 Švédsko

Švédsko patří mezi státy, které jsou velmi zaměřeny na ochranu životního prostředí. V roce 2010 pocházelo 32 % energie z obnovitelných zdrojů. [11]

V roce 2011 bylo ve Švédsku přibližně 170 zařízení pro výrobu energie z bioplynu a další jsou naplánovány nebo ve výstavbě. [12]

Zatímco dřevo, odpady, případně olej jsou využívány pro vytápění a výrobu elektřiny, je biometan hojně využíván jako palivo pro motorová vozidla. [13] V současné době (stav ke dni 3. 2. 2012) je ve Švédsku 134 plnicích stanic stlačeného zemního plynu, který bývá míchán spolu s biometanem a existují i stanice, ve kterých je možno natankovat pouze stlačený biometan. [14] Tento vysoký podíl využívání biometanu je umožněn díky rozsáhlému motivačnímu programu, např. je bioplyn osvobozen od daně za motorová paliva a je tedy výrazně levnější než benzín. [13]

Dále je biometan zaváděn do rozvodných sítí zemního plynu, odkud je využíván jak pro domácnosti, tak i pro uvedené čerpací stanice. [13]

Pro zajímavost v roce 2005, Švédsko jako první zprovoznilo vlak poháněný biometanem. (obrázek č. 3.1) [15]



Obrázek č. 3.1: První vlak poháněný biometanem [15]

3.4 Německo

Většina bioplynových stanic v Německu vyrábí elektrickou energii a teplo pomocí kogenerace. V roce 2010 byl celkový počet bioplynových stanic 5 905 s průměrným výkonem 380 kW_{el}. [16] Z toho 52 BPS sloužilo k produkci biometanu. [17]

V roce 2009 byla v německém Güstrow vystavěna největší bioplynová stanice na světě o rozloze 20 hektarů. Její výkon je 10 000 Nm³/hodina, což odpovídá 22 MW_{el}. Tato stanice zásobuje biometanem přibližně 50 000 obyvatel při roční spotřebě biomasy 450 000 tun. [18, 19]

V roce 2011 byla ve městě Gersthofen otevřena první čerpací stanice v Německu, u které lze tankovat biometan vyrobený výhradně z bioodpadů. Tato BPS do sítě dodává 700 m³/hodina biometanu při roční spotřebě přibližně 36 000 tun biologických odpadů z prošlých potravin, jatečních zbytků a zbytků z mlékáren. [20]

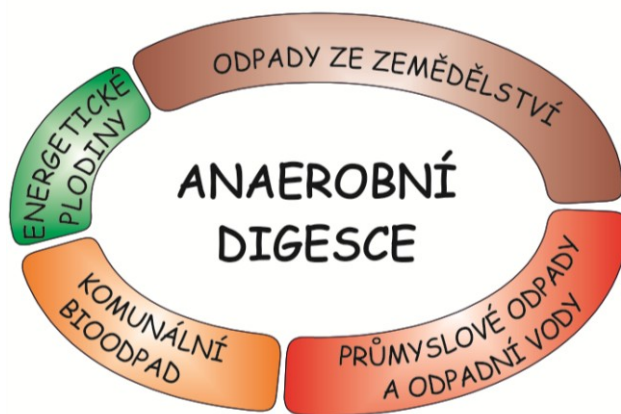
3.5 Švýcarsko

Bioplyn je ve Švýcarsku získáván převážně z čistíren odpadních vod. Menší část vzniká na farmách při kompostování a z kofermentačních BPS. [21] Bioplyn bývá upravován na biometan a využíván pro pohon motorových vozidel. V čerpacích stanicích je zemní plyn smíchán s minimálně 10 % biometanu. [22] V roce 2012 je ve Švýcarsku 132 čerpacích stanic na zemní plyn a zhruba 10 500 dopravních prostředků využívajících zemní plyn. [23] Za zmínku stojí hlavní město Bern, ve kterém je provozováno 100 autobusů městské hromadné dopravy na biometan. [24]

4. Substráty

Pod pojmem substrát rozumíme vstupní suroviny pro anaerobní digesci. Historicky je anaerobní digestce spojována především se zpracováním zvířecích výkalů a kalů z čistíren odpadních vod, které jsou pro svůj přirozený obsah anaerobních bakterií vhodným startovacím médiem pro anaerobní digesci.

S poptávkou po nových formách obnovitelné energie a povinností omezení ukládání biologicky rozložitelného odpadu z komunálního odpadu na skládky dle směrnice č. 1999/31/ES, ve znění pozdějších předpisů, se rozšířilo pole působnosti anaerobní digestce o další vstupní suroviny, jak ukazuje obrázek č. 4.1.



Obrázek č. 4.1: Původ vhodných substrátů pro anaerobní digesci [25]

4.1 Substráty vhodné pro anaerobní digesci

V zařízeních na výrobu bioplynu se používají hospodářské exkrementy (např. kejda, hnůj), energetické plodiny (např. kukuřice a další obiloviny, řepa, senáž, vojtěška, rákosí), zbytkové látky jako zbytky po sklizni zemědělských plodin (např. listy cukrové řepy), bioodpady z údržby veřejné zeleně (tráva, listí, ale nikoli dřevo), bioodpady z domácností a ze zahrad, prošlé potraviny a bioodpady ze supermarketů, zbytky z jídelen, restaurací a hotelů, bioodpady z podnikatelských provozů (pekárny, lihovary, pivovary, cukrovary, masokombináty), nebo organické odpady (např. čistírenské kaly). [26, 27]

Pro všechny substráty určené ke zpracování v BPS je důležité zachování požadavků na kvalitu, která by měla být průběžně kontrolována. [26] Požadavky a hygienická pravidla pro zpracování některých biologických odpadů živočišného původu upravuje

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1774/2002, o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu, které nejsou určeny pro lidskou spotřebu, ve znění pozdějších předpisů. [26, 28]

4.1.1 Hospodářské exkrementy

Hospodářské exkrementy se používají jako startovací médium anaerobní digesce. Obsah sušiny se liší podle způsobu chovu a typu sběru exkrementů. U prasat a hovězího dobytka se průměrně pohybuje v rozmezí 2 – 10 %. Při použití slámy jako podestýlky se obsah sušiny pohybuje v rozmezí 10 – 30 %. [25, 29, 30]

Kuřecí hnůj obsahuje přibližně 20 % sušiny, avšak obsahuje vyšší koncentrace $\text{NH}_4\text{-N}$, což může mít za následek inhibiční účinky na proces anaerobní digesce. [25]

4.1.2 Zbytky ze sklizně a zahradní odpady

Zbytky ze sklizně a zahradní odpady se přidávají jako kosubstráty ke kejďe a hnoji. Jedná se o zbytky rostlin, znehodnocené ovoce a zeleninu aj. [25]

Dále se mohou využívat odpady z úpravy krajiny, odřezky apod., avšak s ohledem na ekonomické a ekologické hledisko by tato surovina měla pocházet z malého okruhu zařízení na výrobu bioplynu, protože obsahuje vysoké množství vody a z toho plynoucí vysoké náklady na přepravu. [8]

4.1.3 Energetické plodiny

Energetické plodiny jsou plodiny pěstované na zemědělských půdách používané jako vstupní suroviny pro výrobu bioplynu. Typické plodiny jsou kukuřice nebo čirok. Směs kukuřice a kejdy je nejčastěji používaná surovina v decentralizovaných zemědělských bioplynových stanicích. [8] Z vytrvalých energetických rostlin je možno využít např. mužák prorostlý. [31]

Energetické plodiny maximalizují výnos (sušiny na hektar) a nabízejí vysokou účinnost konverze [8], navíc lze využít zemědělské plochy, které by jinak zůstaly ladem. Siláž je možno uložit na delší časové období a následně využít k produkci bioplynu, když je energie zapotřebí. [25]

4.1.4 Ostatní zemědělské suroviny

Sekundární plodiny nebo meziplodiny, sázené po sklizni hlavních plodin, mohou být také použity jako vstupní surovina pro výrobu bioplynu. Tento systém umožňuje dvě sklizně za rok na jednom pozemku. [8]

4.1.5 Odpady pro výrobu bioplynu

Jedná se o různé produkty potravinářského průmyslu – pivovary, cukrovary, zpracovávání ovoce, jatka, atd, ale také odpady potravin, použité kuchyňské oleje, organické frakce tuhého komunálního odpadu, které lze použít jako suroviny na výrobu bioplynu a tím zvýšit nabízenou energii z biomasy. [8] Tyto odpady je vhodné míchat spolu se zvířecími exkrementy (hnojem, kejdou) a rostlinnou biomasou pro zlepšení procesu fermentace. [31]

4.1.6 Aditiva

Do substrátu je možno přidávat různá aditiva, která slouží ke zlepšení procesu anaerobní digesce. Pro názornost zde uvedu dva zástupce, které jsou obsaženy v substrátu použitém v praktické části této práce.

Bio Algeen

Bio Algeen je založen na bázi mořské řasy *Ascophyllum Nodosum*. [32] Tento přípravek pracuje na principu silné aktivace mikrobiálního rozkladu organických látek, čímž dochází k navýšení výtěžnosti bioplynu a zkrácení doby zdržení. [33] Rovněž se používá pro snižování emisí amoniaku. Další výhodou je použití Bio Algeenu k homogenizaci, čímž se zajišťuje, že kejda nesedimentuje. [32]

Treonin

Treonin je esenciální glukoplastická aminokyselina. Má velký význam při aktivaci či inaktivaci enzymů, zvyšuje rozpustnost bílkovin ve vodě. Treonin se přidává do krmiva hospodářských zvířat. [34]

4.2 Složení substrátu

Substráty pro anaerobní digesti se značně liší ve složení, homogenitě, dynamice tekutin a biologické rozložitelnosti.

Obsah sušiny v kravské a prasečí kejďe se pohybuje v rozmezí 2 – 12 %. U kuřecího hnoje je obsah sušiny 10 – 30 %. Obsah sušiny jiných zemědělských odpadů a vedlejších produktů, se značně liší. Některé zemědělsko – průmyslové odpady mohou obsahovat méně než 1 % sušiny, zatímco jiné mohou obsahovat více než 20 % sušiny. [25, 29, 30] Na složení substrátu rovněž závisí výtěžnost bioplynu a jeho obsah metanu. (tabulka č. 4.1)

Tabulka č. 4.1: Charakteristika vybraných zemědělských surovin [25]

Surovina	Veškeré Látky VL [%]	Rozpuštěné Látky [% z VL]	Poměr C:N	Výnos Bioplynu ³⁾ [m ³ . kg ⁻¹ RL]	Doba zdržení [dny]	Obsah CH ₄ [%]	Nežádoucí složky	Inhibitory	Nejčastější problémy	Odkazy
Prasečí kejďa	3 – 8 ⁴⁾	70 – 80	3 – 10	0,25 – 0,50	20 – 40	70 – 80	Hoblíny, štětiny, H ₂ O, písek, sláma	Antibiotika desinfekce	Vrstvení kalu, sedimenty	[35], [36], [37], [38]
Kravská kejďa	5 – 12 ⁴⁾	75 – 85	6 – 20 ¹⁾	0,20 – 0,30	20 – 30	55 – 75	Štětiny, zemina, H ₂ O, NH ₄ ⁺ , sláma, dřevo	Antibiotika desinfekce	Vrstvení kalu, nízká výtěžnost bioplynu	[35], [36], [37], [38]
Drůbeží kejďa	10 – 30 ⁴⁾	70 – 80	3 – 10	0,35 – 0,60	> 30	60 – 80	NH ₄ ⁺ , štěrky, písek, peří	Antibiotika desinfekce	Inhibice NH ₄ ⁺ , vrstvení kalu	[35], [39]
Syrovátka	1 – 5	80 – 95	–	0,80 – 0,95	3 – 10	60 – 80	Transportní nečistoty		Snižování pH	[35], [37]
Listí	80	90	30 – 80	0,10 – 0,30 ²⁾	8 – 20	–	Zemina	Pesticidy		[35], [37]
Hoblíny	80	95	511	–	–	–	Neočekávaný materiál		Mechanické problémy	[35], [37]
Sláma	70	90	90	0,35 – 0,45 ⁵⁾	10 – 50 ⁵⁾	–	Písek, štěrky		Vrstvení kalu, nízká výtěžnost bioplynu	[35], [37]
Dřevní odpad	60 – 70	99,6	723	–	∞	–	Neočekávaný materiál		Nízká výtěžnost bioplynu	[35], [37]
Zahradní odpad	60 – 70	90	100 – 150	0,20 – 0,50	8 – 30	–	Zemina, celulózní složky	Pesticidy	Nízká rozložitelnost celulózních složek	[35], [37]
Tráva	20 – 25	90	12 – 25	0,55	10	–	Štěrk	Pesticidy	Snižování pH	[35], [37]
Travní siláž	15 – 25	90	10 – 25	0,56	10	–	Štěrk		Snižování pH	[35], [37]
Ovocný odpad	15 – 20	75	35	0,25 – 0,50	8 – 20	–	Nerozložitel. ovocné zbytky, štěrky	Pesticidy	Snižování pH	[35]
Zbytky potravin	10	80	–	0,50 – 0,60	10 – 20	70 – 80	Kosti, umělé hmoty	Pesticidy	Sedimenty, mechanické problémy	[40]

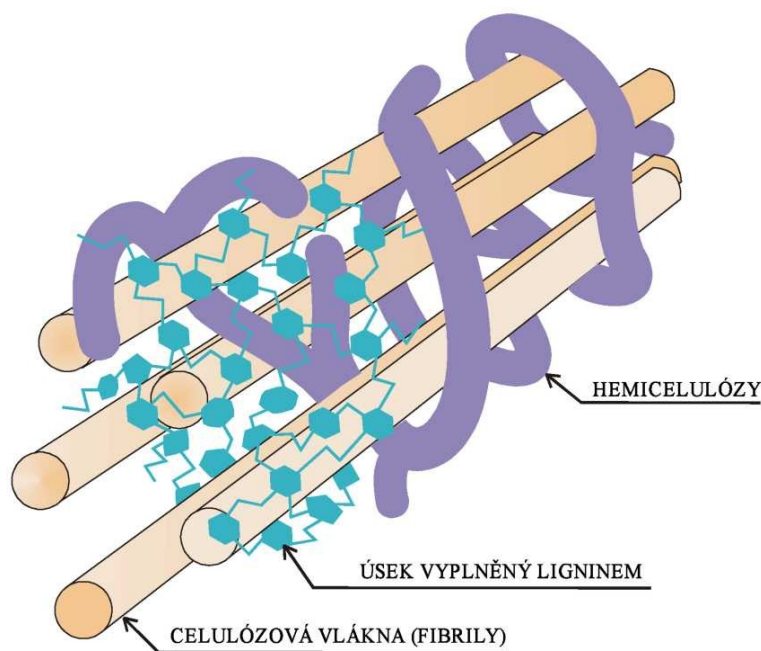
¹⁾ v závislosti na přidané slámě; ²⁾ v závislosti na stupni vysušení; ³⁾ v závislosti na době zdržení; ⁴⁾ v závislosti na ředění;

⁵⁾ v závislosti na fragmentaci

4.3 Lignocelulózové materiály

Lignocelulózové materiály je souhrnný pojem pro tři hlavní složky rostlinného pletiva, a to celulózu, hemicelulózu a lignin.

Lignocelulózové materiály jsou tvořeny celulóзовými vlákny, tzv. fibrilami, kolem kterých se obtáčí rozvětvené řetězce hemicelulóz. Zbývající prostor mezi celulózou a hemicelulózou vyplňuje lignin, který zde zastává funkci pojiva. [41]

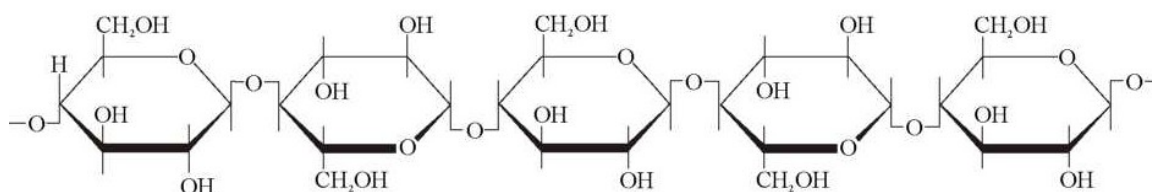


Obrázek č. 4.2: Schématické znázornění struktury rostlinné stěny [42]

Biodegradabilní celulóza a hemicelulóza tvoří až 90 % biochemického metanového potenciálu substrátů, avšak ne všechny jsou využitelné pro proces anaerobní digesce, což je způsobeno především strukturou buněčných stěn rostlin. [43, 44]

4.3.1 Celulóza

Celulóza je polysacharid, který je tvořen jednotkami D-glukózy vázaných vzájemně 1,4- β -vazbou a tvoří dlouhé, nerozvětvené řetězce (až 1000 molekul glukózy v řetězci), nerozpustné ve vodě. (obrázek č. 4.2) [42, 45]



Obrázek č. 4.3: Schéma struktury celulózy [42]

Celulóza není zcela dobře rozložitelná a vyžaduje celulolytické enzymy ke své hydrolýze. [46, 47]

Jen několik skupin organismů je schopno štěpit celulózu, jsou to především některé mikroorganismy (bakterie, prvoci, kvasinky a houby). [48] V aerobních podmínkách jsou tohoto rozkladu schopny např. celulolytické bakterie a mykobakterie. [49]

V anaerobních podmínkách jsou to např. bakterie: *Bacteriodes succinogenes*, *Clostridium lochhadii*, *Clostridium cellobioporus*, *Ruminococcus flavecians*, *Ruminococcus albus*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Clostridium thermocellum*, *Clostridium stercorarium*, *Micromonospora bispora*. [50, 51, 52]

Mikroorganismy produkují celulózy, které jsou katalyzátory rozkladu celulózy. [48] Tyto mikroorganismy žijí často v symbióze se svými hostiteli v jejich trávicí soustavě. U skotu je to především bacher, který obsahuje bohatou mikroflóru, ze které je izolována i houba *Anaeromyces mucronatus*, která je použita v praktické části této práce. [53]

4.3.2 Hemicelulóza

Hemicelulóza je polysacharid tvořený rozvětvenými řetězci, a je fyzikálně a chemicky propojen s celulózą a ligninem. [54, 42] Hemicelulóza tvoří 17 – 41 % rostlinné hmoty. [54]

Hemicelulóza je rozpustná ve zředěných loužích a snadno hydrolyzovatelná zředěnými kyselinami. [54]

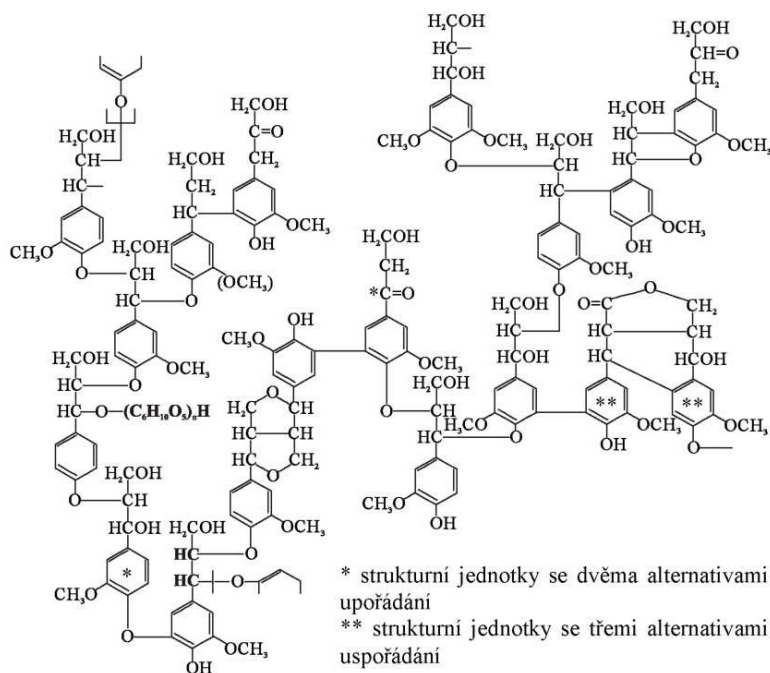
Oproti celulóze je hemicelulóza snadněji a rychleji rozkládána pomocí enzymů anaerobních mikroorganismů. [46, 52, 55]

Hemicelulóza je rozkládána např. bakteriemi: *Bacteriodes ruminicola*, *Butyvirio fibrisolvens*, *Ruminococcus flavefaciens* a *Ruminococcus albus*. [44]

4.3.3 Lignin

Lignin je aromatický prostorový heteropolymer fenolického typu [42], který má strukturu zcela odlišnou od celulózy a hemicelulózy (obrázek č. 4.3), a proto je lignin velmi obtížně rozložitelný a velmi odolává biometanizačním rozkladům. [56] Pouze mikroorganismy říše *Fungi* produkují enzymy, které jsou schopny odbourávat lignin [52, 55], např. v malém procentu (méně než 20 %) jsou schopny rozkládat lignin *Aktinomycety*. [57]

Rozklad ligninu probíhá převážně v aerobních podmínkách. V anaerobních podmínkách je velmi stálý. [52, 58]



Obrázek č. 4.4: Schéma struktury ligninu [42]

4.3.4 Inhibitory

Mikroorganismy podílející se na fermentaci jsou živé organismy, jsou tudíž náchylné na nepříznivé vlivy prostředí, ve kterém pracují.

Látky, které potlačují jejich růst a činnost jsou nazývány inhibitory. Nejvýznamějšími inhibitory jsou amoniak a sulfan, které vznikají v rámci fermentačního procesu. Dalšími inhibitory jsou různé nežádoucí látky zanesené do substrátu spolu s biomasou. Přehled významných inhibitorů a jejich škodlivých koncentrací je uveden v tabulce č. 4.2.

Tabulka č. 4.2: Vybrané inhibitory [59]

Inhibitor	Koncentrace
Sodík	Mezi 6-30 g/l (u adaptovaných kultur až k 60 g/l)
Draslík	Od 3 g/l
Vápník	Od 2,8 g/l CaCl_2
Hořčík	od 2,4 g/l MgCl_2
NH_4^+	2,7-10 g/l
Amoniak	od 0,15 g/l
Síra	od 50 mg/l H_2S , 100 mg/l S^{2-} , 160 mg/l Na_2S (v adaptovaných kulturách až k 600 mg/l Na_2S a 1 000 mg/l H_2S)
Těžké kovy	<u>Jako volné ionty:</u> od 10mg/l Ni, od 40 mg/l Cu, od 130 mg/l Cr, od 340 mg/l Pb, od 400 mg/l Zn <u>V uhličitanové formě: (v karbonátech)</u> od 160 mg/l Zn, od 170 mg/l Cu, od 180 mg/l Cd, od 530 mg/l Cr^{3+} , od 1 750 mg/l Fe těžké kovy mohou být přes sulfidy vysráženy a neutralizovány
Mastné kyseliny	Kyselina iso-máselná: už od 50 mg/l brzdí

Amoniak

Amoniak je tvořen při degradaci dusíkatých látek, především bílkovin a močoviny. [59, 60, 61] Amoniak je v rovnováze s amonnými ionty (NH_4^+), avšak se vzrůstajícím pH je rovnováha posunuta ve prospěch amoniaku. [59, 62] Amoniak již ve velmi malých koncentracích (od 150 mg/l) působí jako inhibitor na metanogenní činnost mikroorganismů. Při dlouhodobém podávání substrátu s vyšší koncentrací dusíkatých látek se metanogenní bakterie dokážou postupně přizpůsobit. [63] Na rozdíl od amoniaku amonné ionty slouží většině bakterií jako zdroj dusíku. [59]

Se stoupající teplotou je inhibiční účinek amoniaku vyšší, což ovlivňuje zejména BPS s termofilním provozem. [59, 60]

Nežádoucí amoniak může být redukován srážením na struvit (MgNH_4PO_4). [64]

Sulfan

Dalším produktem fermentace je sulfan, který v rozpuštěné formě působí jako buněčný jed a už v koncentraci přibližně od 50 mg/l může inhibovat proces. Avšak síra je rovněž velmi důležitá minerální látka pro růst metanogenních bakterií. [59, 65]

Na druhou stranu jsou na sulfidové ionty (S^{2-}) vázány těžké kovy a jsou vysráženy ve formě nerozpustných kovových sulfidů. [59, 64]

V případě potřeby lze vysokou koncentraci sulfanu redukovat přidáním železitých a železnatých solí, které se poté srážejí jako nerozpustný sulfid. [42]

Ostatní inhibitory

Proces výroby bioplynu může být potlačen rovněž vlivem inhibitorů, které jsou do procesu zavedeny skrze přidávaný substrát.

V zásadě každá látka substrátu ve vysoké koncentraci může negativně ovlivnit bakterie, proto je třeba vyvarovat se nadměrnému množství substrátu.

V nízkých koncentracích mohou proces negativně ovlivnit látky, jako jsou např. antibiotika, chemoterapeutika, desinfekční prostředky, organické kyseliny, rozpouštědla, herbicidy, soli nebo těžké kovy. [59, 65, 66, 67]

Také esenciální stopové prvky mohou být pro bakterie ve vysokých koncentracích toxické. Vzhledem k tomu, že se bakterie některým látkám mohou přizpůsobit, je obtížné určit, kdy jsou tyto látky bakteriím škodlivé. [59, 65, 67]

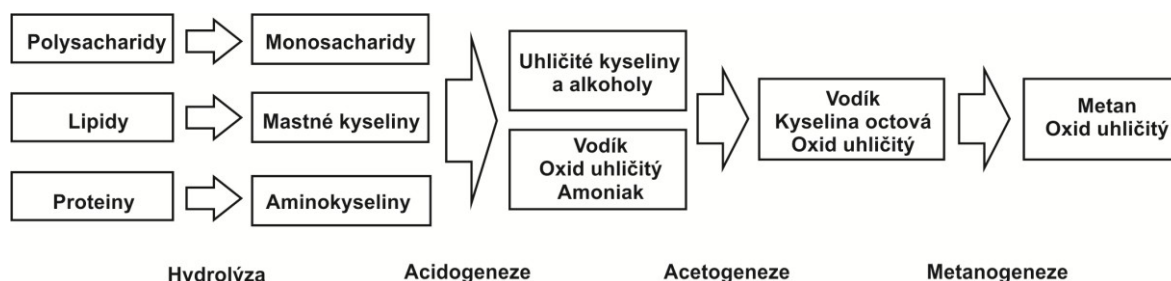
4.3.5 Živiny

Celkový poměr živin v substrátech má zásadní význam pro proces anaerobní digesce. Poměr C:N se v substrátech může měnit v širokém rozmezí od 6 : 1 u kejdy až po více než 500 : 1 u dřevěných hoblin. Aby fermentace probíhala co nejefektivněji, je nutný správný poměr dusíku a fosforu k organickým látkám. Potřebný poměr živin, který vyplývá z bilance produkce biomasy, se udává jako CHSK : N : P v rozmezí 300 – 500 : 6,7 : 1. Optimální poměr C : N : P je 100 : 5 : 1. [25, 63]

5. Fermentace

Fermentace je biologický rozklad organických látek v anaerobních podmínkách. Za určitých podmínek může probíhat samovolně nebo může být vyvolán záměrně pomocí biotechnologických zařízení. Tento proces je též nazýván metanová fermentace, metanové kvašení, anaerobní digesce, biogasifikace, biometanizace či biochemická konverze organické látky. [68]

Proces fermentace probíhá ve 4 fázích: hydrolýze, acidogenezi, acetogenezi a metanogenezi (obrázek č. 5.1).



Obrázek č. 5.1: Zjednodušené schéma procesu fermentace [69]

Hydrolýza

V první fázi dochází k rozkladu makromolekulárních rozpuštěných i nerozpuštěných organických látek, polysacharidů, lipidů a proteinů, na nízkomolekulární látky rozpustné ve vodě, např. monosacharidy, aminokyseliny, mastné kyseliny. Za tento rozklad jsou zodpovědné extracelulární hydrolytické enzymy (celulázy, hemicelulázy, amylázy, lipázy a proteázy), které jsou produkovány fermentačními bakteriemi. [63, 70]

Tento rozklad zajistí bakteriím v anaerobních nádržích přístup k energetickému potenciálu materiálu. Proto je hydrolýza těchto makromolekulárních polymerů nezbytný první krok při anaerobní digesti.

Acidogeneze

Této fázi se také říká kyselá nebo okyselení.

Acidogeneze je biologický proces, při kterém dochází k dalšímu rozkladu produktů hydrolýzy acidogenními (fermentativními) bakteriemi. Dochází k tvorbě mastných kyselin (kapronová, valerová, máselná, propionová), alkoholů (etanol, metanol), oxidu uhličitého, vodíku, amoniaku a sulfanu. [42, 71, 72, 73, 74]

Podle charakteru počátečního substrátu a podmínek prostředí se liší konečné produkty acidogeneze. Při nízkém parciálním tlaku vodíku dochází k tvorbě kyseliny octové, vodíku a oxidu uhličitého. Při vyšším parciálním tlaku vodíku dochází k tvorbě vyšších organických kyselin, kyseliny mléčné, etanolu, apod. [63]

Acetogeneze

Třetí fází anaerobní digesce je acetogeneze. V této fázi jsou produkty acidogeneze oxidovány na kyselinu octovou, vodík a oxid uhličitý. Kyselina octová rovněž vzniká acetogenní respirací oxidu uhličitého a vodíku za pomoci homoacetogenních mikroorganismů. Účast těchto mikroorganismů je nezbytná, protože rozkládají kyselinu propionovou, ostatní organické kyseliny s délkou řetězce vyšší než kyselina octová, alkoholy a některé aromatické sloučeniny tak, aby mohly být přímo využity metanogeny. [63, 71]

Vedle acetogenních organismů se v této fázi na rozkladu podílejí i minoritní skupiny organismů, např. sulfátreduktanty a nitrátreduktanty, které vedle kyseliny octové a vodíku také produkují sulfan a dusík. [75]

Metanogeneze

Metanogeneze je konečná fáze anaerobní digesce, při níž metanogeny využívají meziprodukty z předchozích fází za vzniku metanu, oxidu uhličitého a vody. [71]

Metanogeneze je jediný způsob, jak mohou metanogenní archaea získávat energii pro růst a tyto jsou jediné známé organismy produkující metan jako produkt svého katabolismu. [76]

K tvorbě metanu dochází především štěpením kyseliny octové a redukcí oxidu uhličitého podle následujících rovnic: [77]

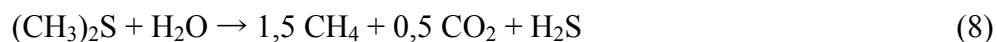
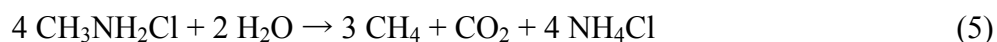
Štěpení kyseliny octové:



Redukce oxidu uhličitého:



K tvorbě metanu dále dochází rozkladem některých jednouhlikatých látek (metanol, kyselina mravenčí, metylaminy, dimethylsulfid) [76]



Pro tvorbu metanu mohou být využity pouze uvedené substráty. [76]

Metanogeny se dělí do dvou hlavních skupin v závislosti na cestě, kterou využívají k tvorbě metanu:

Acetotrofní metanogenní bakterie

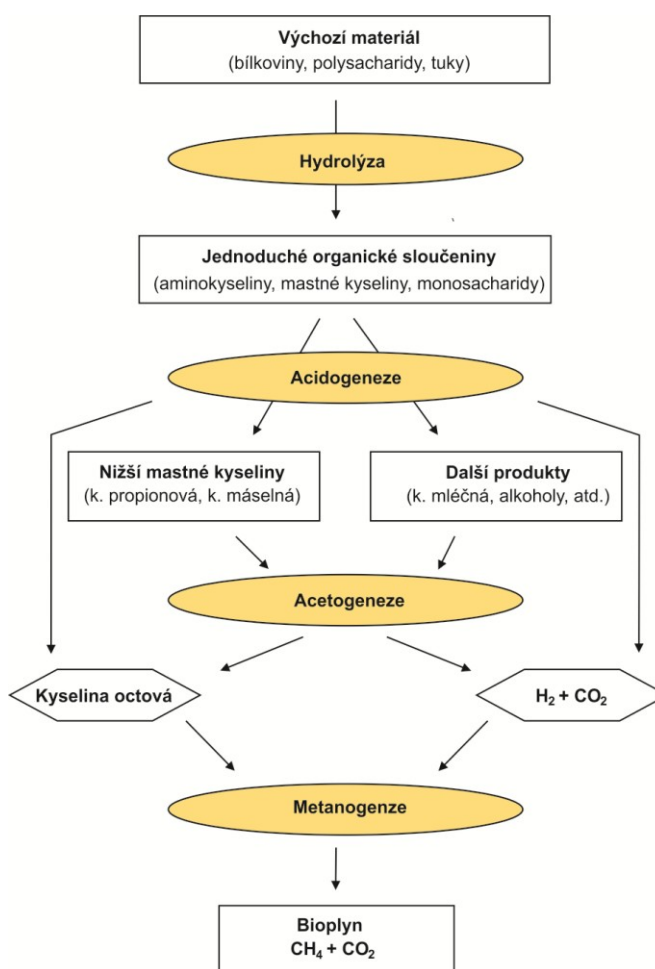
Acetotrofní metanogenní bakterie rozkládají kyselinu octovou na metan a oxid uhličitý (rovnice č. 1), čímž jsou schopny udržovat pH fermentačního média. Tyto bakterie jsou v tomto procesu nezastupitelné, protože jejich působením dochází ke vzniku 2/3 metanu v bioplynu získaného v anaerobních reaktorech. [63, 77]

Hydrogenotrofní metanogenní bakterie

Všechny metanogeny mohou redukovat oxid uhličitý a vodík na metan a vodu. Mikoorganismy, které používají výhradně tuto cestu (rovnice č. 2), se nazývají hydrogenotrofní metanogenní bakterie. [77] Správným působením těchto bakterií

je ze systému odstraněn téměř všechen vodík. Pokud se v kapalně fázi vyskytuje vodík ve vyšších koncentracích, pravděpodobně došlo k přetížení anaerobního reaktoru nebo k inhibici těchto metanogenů. [63]

Pokud proces fermentace probíhá kontinuálně, probíhají výše uvedené procesy současně. [66] Pro názornost tyto procesy uvádím ve schématu. (obrázek č. 5.2)



Obrázek č. 5.2: Schéma procesu fermentace [59]

Obsah vody v substrátu má vliv na konstrukci a typ fermentoru. Z hlediska obsahu vody dělíme proces na „mokrou fermentaci“, která využívá substrát s obsahem sušiny nižší než 15 % a „suchou fermentaci“ využívající substrát s obsahem sušiny vyšším než 15 %.

5.1 Suchá fermentace

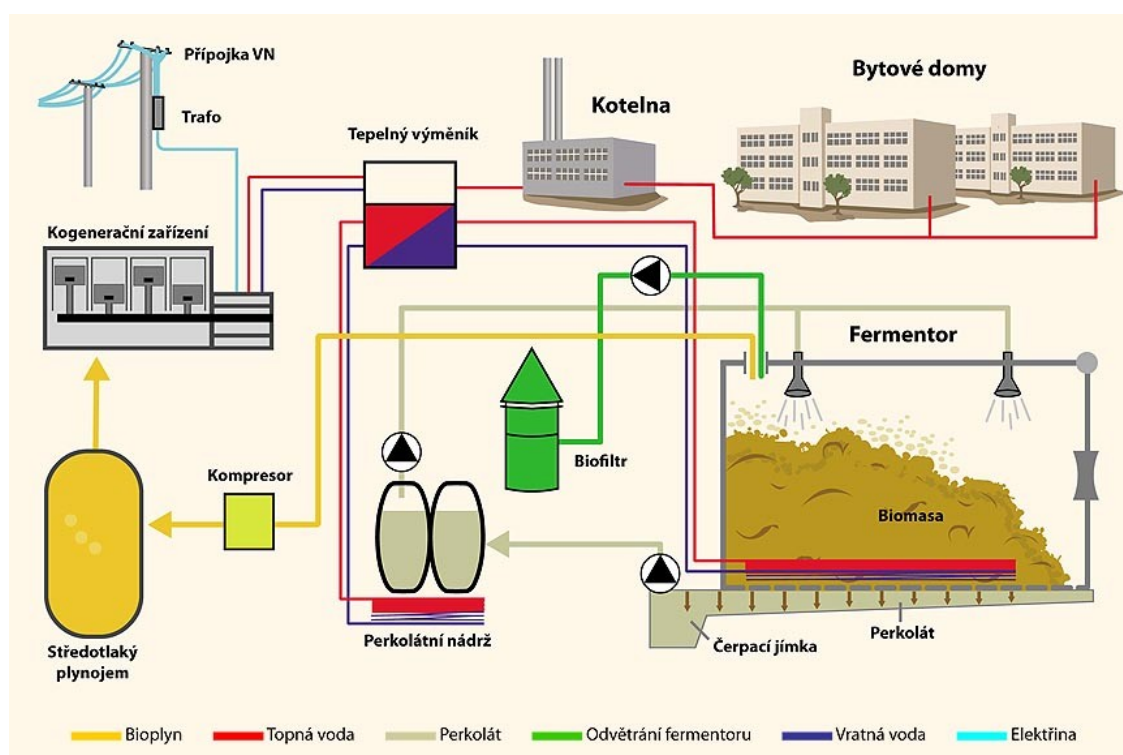
Suchou fermentaci lze provozovat jak v termofilním, tak v mezofilním režimu. Byla vyvinuta pro anaerobní zpracování pevných substrátů s obsahem sušiny mezi 15 až 45 % s optimálním pH v rozmezí 6,5 – 7,5. [78, 79]

Podle obsahu sušiny dělíme suchou fermentaci na dva procesy: [26]

- suchý proces (25 - 45 % sušiny)
- vysokосуšinový proces (nad 40 % sušiny).

Bioplynová stanice se skládá z garážových fermentorů s plynotěsnými vraty, vytápěných perkolátních nádrží, manipulační plochy před fermentory nebo manipulační halou s technologickou míchárnou, technologie výroby bioplynu (perkolátní, tepelné a plynové hospodářství), strojovny s kogenerační jednotkou, velínu s elektrorozvodnou, biofiltru a hořáku zbytkového plynu. [79, 80]

Zjednodušené schéma bioplynové stanice se suchou fermentací je znázorněno na obrázku č. 5.3.



Obrázek č. 5.3: „Suchá“ anaerobní fermentace [80]

Princip suché fermentace je založen na horizontálním zapojení několika fermentorů tzv. garážového typu. Pro zajištění stabilní produkce bioplynu je zapotřebí nejméně 4 garáží. [81]

Fermentor se naplní vsázkovým způsobem kolovým nakladačem a uzavrou se plynotěsná vrata. [26, 80] Zde se biomasa postřikuje za účelem inokulace perkolátem, který obsahuje vhodné mikrobiální kultury anaerobních mikroorganismů a přidává se část fermentačního zbytku z předchozího cyklu. [82] Biomasa může být vyhřívána podlahovým topením. [83] Během následujících 12 – 20 hodin, [79] uvádí do 3 hodin, dojde k odstranění zbytkového kyslíku a postupné stabilizaci celého anaerobního procesu. [83] Vznikající bioplyn je odsáván do plynových vaků a dále odváděn do kogenerační jednotky, kde je transformován na elektrickou energii za vzniku tepla, které je využíváno v procesu, nebo k dalšímu zpracování. [79, 83]

Tyto fermentory se jednorázově vyprazdňují po 28 dnech. Zfermentovaný substrát se po vyprázdnění smíchá s novým v konkrétním poměru a znovu se naskladní. [81] Digestát je možno kompostovat nebo použít jako cenné biohnojivo v zemědělství a zahradnictví. [84]

Výhody a nevýhody

Výhody

Jednou z hlavních výhod je, že suché fermentory na rozdíl od reaktorů na mokrou fermentaci zpracovávají substráty s přibližně 4 – 6 násobkem obsahu sušiny. Díky tomu dosahují vyššího obsahu metanu. [79, 80]

Mezi další klady patří nižší spotřeba elektrické energie, neboť není nutno biomasu před vstupem do fermentoru upravovat na nižší fragmentaci, následně ji čerpat do fermentoru, míchat a na konci procesu odčerpávat. S tím souvisí malé opotřebení a tím pádem nízké náklady na údržbu a opravy. [59, 79]

Díky modulární výstavbě lze jednoduše rozšířit provoz dle aktuálních potřeb a množství vstupních surovin. [59, 79]

Nežádoucí příměsi jako sklo, kamení, kovy, plasty apod., neovlivňují chod BPS. [85]

Při kolapsu procesu z důvodu navedení kontaminovaného materiálu, např. přidavkem antibiotik, není ohrožen chod celé BPS. Na rozdíl od reaktorů na mokrou fermentaci

se vyveze pouze jeden kontaminovaný fermentor, který se následně naplní nezávadnou biomasou. Tím není chod BPS jako celku ohrožen. [79]

Nevýhody

Pro některé investory jsou nevýhodou vyšší investiční náklady na výstavbu BPS a to i přes to, že lze poté dosahovat vyšších výnosů. Důvodem může být nízká rozšířenost a s tím související malá možnost srovnání obou metod. [79]

Je nutné vystavět více fermentorů, aby byla zajištěna plynulá tvorba bioplynu pro kogenerační jednotky. [59]

Mohou vznikat ložiska s nižší výtěžností bioplynu z důvodu nemožnosti míchání substrátu ve fermentoru. [59]

Je nutné instalovat potřebnou zabezpečovací techniku z důvodu nebezpečí výbuchu metanu při plnění a především při vyskladňování. [59]

5.2 Mokrý fermentace

Mokrý fermentace slouží ke zpracovávání substrátu s malým obsahem sušiny. Tento obsah obvykle činí do 12 – 15 %, neboť takový obsah je ještě čerpatelný. [59]

Mokrou fermentaci lze provozovat jak v mezofilním, tak v termofilním režimu s optimálním pH v neutrální oblasti 6,5 – 7,5.

Bioplynová stanice se skládá ze vstupní jímky tekutých substrátů, vkladacího zařízení pevných substrátů, z jednoho nebo více fermentorů, strojovny s kogeneračními jednotkami, jímače bioplynu a skladové jímky digestátu. [81] Schéma bioplynové stanice s mokrou fermentací je znázorněno na obrázku č. 5.4.

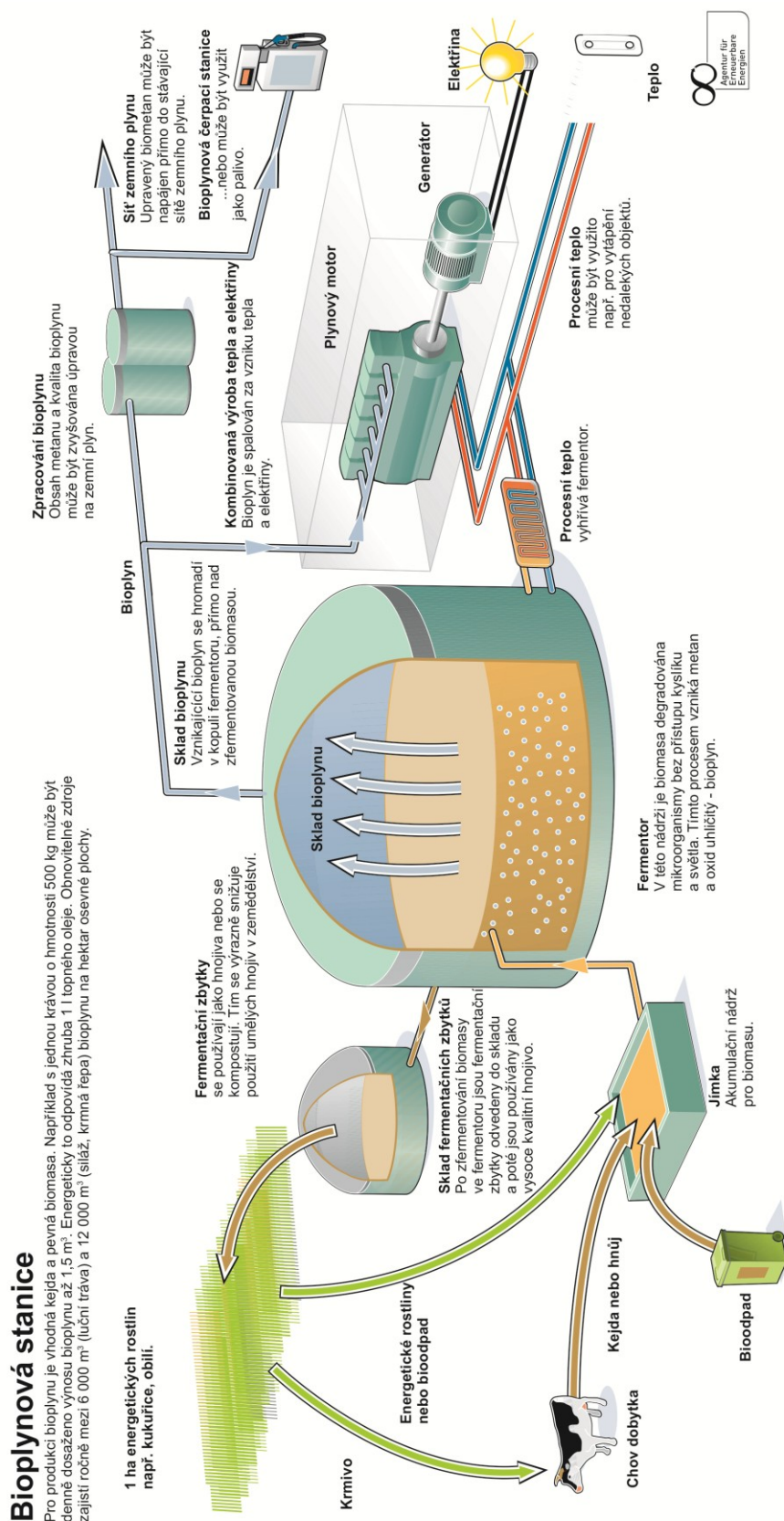
Při mokré fermentaci jsou vhodné organické substráty dopravovány do míchací a homogenizační nádrže, kde se po přidání vody upraví na čerpatelný substrát. Následně je čerpán do reaktoru, ve kterém probíhá fermentační proces. Vzniklý bioplyn je uložen v kopuli nad substrátem, ze které je zpravidla přiváděn do kogenerační jednotky, kde bývá přeměněn v elektrickou energii a teplo. Fermentační zbytek – digestát je uskládáván ve sběrných nádržích, odkud může být přímo aplikován na zemědělskou půdu. [31]

Zemědělské bioplynové stanice

Zemědělské bioplynové stanice většinou zpracovávají cíleně pěstovanou biomasu (siláže, senáže) spolu se statkovými hnojivy. Doba zdržení substrátu je u zemědělských BPS navrhována na minimálně 50 dní. [86]

Ostatní bioplynové stanice

Tyto BPS zpracovávají biologicky rozložitelný odpadový materiál jako průmyslový bioodpad, separovaný bioodpad od obyvatel, odpad z kuchyní a jídelen, jatečný odpad apod. U těchto BPS musí vždy docházet k hygienizaci odpadů. Doba zdržení substrátu je minimálně 60 -70 dní. [86]



Obrázek č. 5.4: Schéma BPS se systémem „mokrý“ fermentace [27]

Výhody a nevýhody

Výhody

Výhodou mokré fermentace je možnost zpracování „mokrých“ substrátů s nízkým obsahem sušiny.

Hned několik výhod přináší použití hnoje v BPS, který jinak obvykle bývá uložen na farmách několik měsíců a pak je využíván jako hnojivo. [8]

Tyto výhody jsou: [8, 26]

- Vyhnutí se emisím CH_4 při skladování hnoje
- Snižuje množství CO_2 nahrazením fosilních paliv
- Digestát jako finální produkt po výrobě bioplynu je cenným hnojivem, žíravý účinek na plodiny je nižší než u surové kejdy
- Digestát je podstatně méně pachově zatížen než surová kejda
- V digestátu je zachován obsah žádoucích živin, jeho používání tak snižuje náklady za minerální hnojiva.
- Zpracováním hnoje se snižuje jeho objem.
- Dochází k redukci patogenů
- Snižuje se klíčivost semen plevelů

Nevýhody

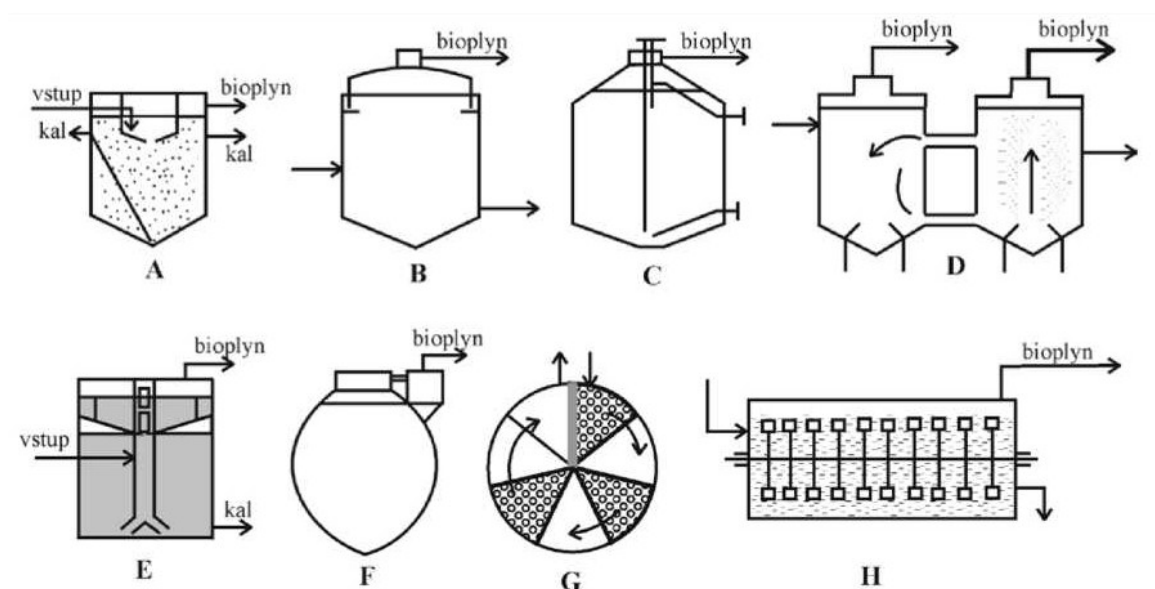
Jednou z hlavních nevýhod mokré fermentace je vysoká spotřeba elektrické energie z důvodu předúpravy biomasy, jejího čerpání, míchání a odčerpávání. [59, 79]

Při zanesení nežádoucích látek do fermentoru dochází ke kolapsu celé BPS.

5.3 Reaktory

Reaktory se technologicky liší podle vlastností zpracovávaného materiálu, především podle toho, je-li materiál v rozpuštěné formě nebo v suspenzi, kde je rozhodující velikost a koncentrace tuhých částic. Tyto reaktory dělíme na: [63]

- reaktory pro zpracování rozpuštěného substrátu (odpadní vody),
- reaktory pro zpracování substrátu v suspenzi (obrázek č. 5.5), obsah sušiny do cca 10 – 12 % (kaly, kejdy, suspenze rozdrcených rostlinných materiálů, apod.)
- reaktory pro zpracování tuhých materiálů, obsah sušiny cca 10 – 50% (např.: slamnatý hnůj).



Obrázek č. 5.5 - Různé typy anaerobních reaktorů pro zpracování materiálů v suspenzi [42]

A – historická šterbinová (Imhoffova) nádrž, B – nádrž s nasazeným plynojemem, C – železobetonová nádrž stojatá válcová s kónickým dnem, D – pneumaticky míchaná dvojité nádrž, E – pulzační nádrž systém BIMA, F – nádrž vejčitá s přepadovou komorou, G – válcová nádrž s programově řízenými míchacími sektory (pohled shora), H – horizontální nádrž s rotačním míchadlem

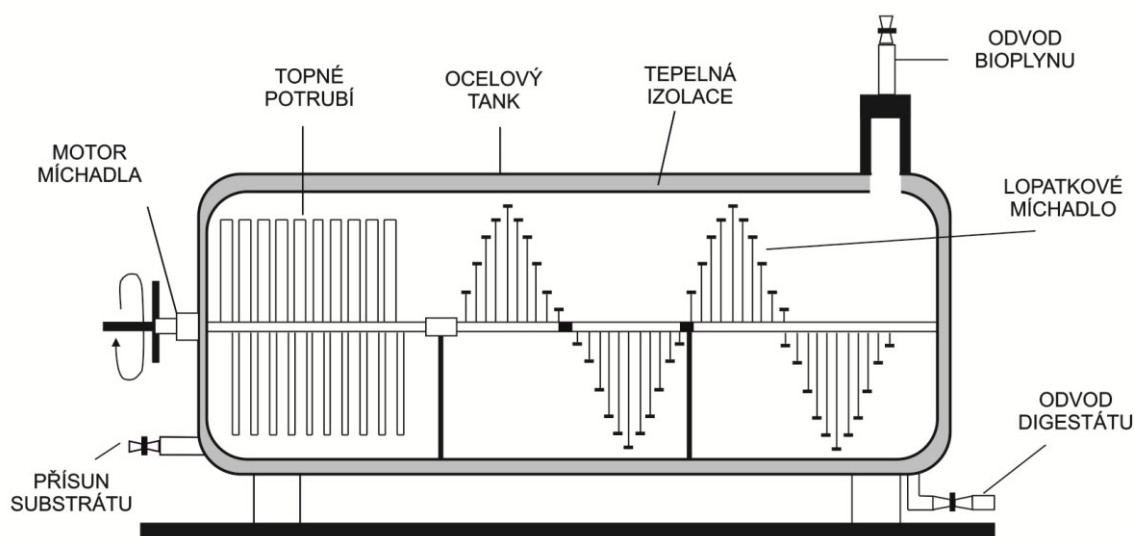
5.3.1 Fermentory pro mokrou fermentaci

Fermentory pro mokrou fermentaci se dělí na horizontální a vertikální.

Horizontální fermentory

Horizontální fermentory mají cylindrický tvar, jsou dvouplášťové, vyhřívané a mají omezenou kapacitu z důvodu nutnosti dopravy z místa výroby. Pro menší objem se tyto nádrže mohou používat i jako předfermentory pro větší zařízení s hlavními vertikálními fermentory. Aby bylo možno zpracovávat větší množství substrátu, často se tyto fermentory provozují paralelně. U fermentorů se nastavuje tzv. pístový tok. Díky malému sklonu od strany plnění po stranu výnosu ($3 - 5^\circ$) a velmi pomalému promíchávání v ose reaktoru ($1 - 3$ ot/min) se materiál postupně pomalu přenáší ke straně výnosu a nedochází k vynášení nezfermentovaného materiálu. Schématický průřez horizontálního fermentoru je na obrázku č. 5.6.

Vznikající bioplyn se hromadí v horní části reaktoru, který je odváděn do plynojemu. V nejnižším bodě reaktoru je jeden nebo více odkalovacích ventilů. Horizontální fermentory se používají převážně ke zpracování hustších odpadů jako je drůbeží trus, domovní odpad a kejda s vyšším obsahem slámy. [59, 87]



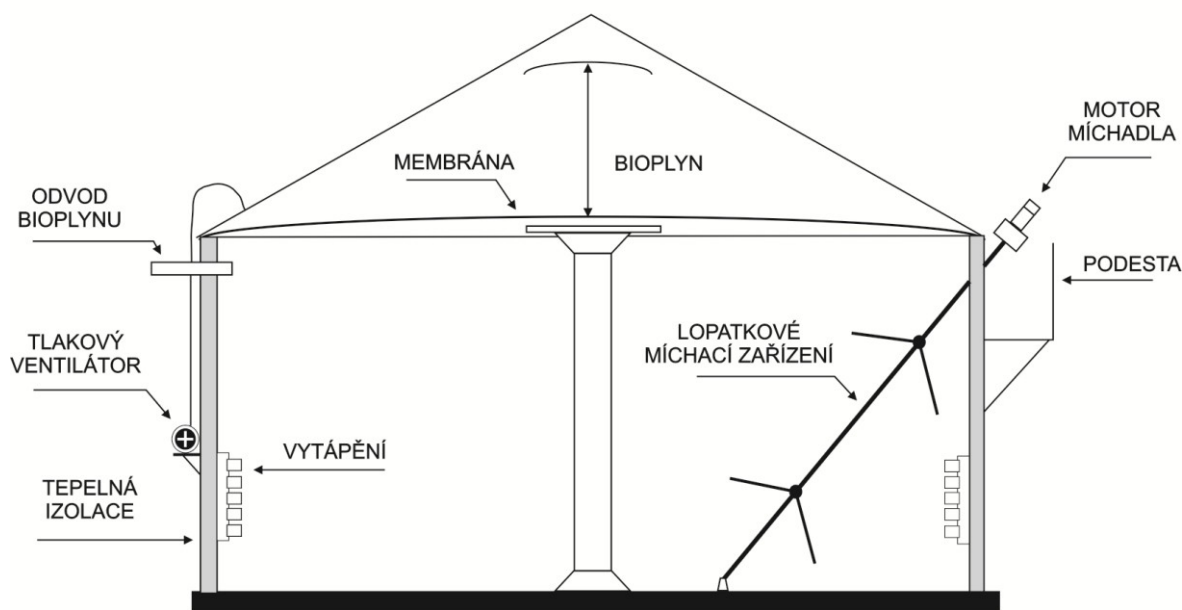
Obrázek č. 5.6: Schématický průřez horizontálního fermentoru [59]

Vertikální fermentory

Vertikální fermentory mají kruhový půdorys. Jejich průměr bývá 8 – 18 metrů a výška 3 – 6 metrů. Fermentor může být stavěn jako nadzemní nebo částečně zapuštěn do země. Méně často jsou vertikální fermentory konstruovány jako podzemní.

Fermentory se skládají z nádrže s betonovými podlahami a stěnami z oceli nebo železobetonu se zateplením. Objemy reaktorů bývají 250 – 600 m³, výjimečně až 1 200 m³. Po patřičné přestavbě se mohou využívat i starší nádrže na kejdu, případně obilí. Bioplyn se zachytává pod střechou fermentoru, která musí být plynotěsná. Schématický průřez vertikálního fermentoru je na obrázku č. 5.7. [59, 87]

Fermentory mají letní a zimní režim. V létě a na podzim je doba zdržení substrátu 20 – 30 dnů a v zimě a na jaře je doba zdržení 60 dnů, čímž se zajišťuje stabilní chod fermentoru. V letních měsících se připravuje rezerva na uskladnění kejdy na zimní období, ve kterém nelze kejdu aplikovat na polích. [59, 87]



Obrázek č. 5.7: Schématický průřez vertikálního fermentoru[59]

5.4 Reaktorové procesy

Reaktorové procesy mohou být klasifikovány podle počtu procesních kroků. Nejčastěji jsou využívány jednostupňové a dvoustupňové procesy.

5.4.1 Jdnostupňový proces

V jednostupňovém fermentačním systému probíhají všechny biologické reakce v rámci jednoho uzavřeného reaktoru nebo zdržovací nádrže.

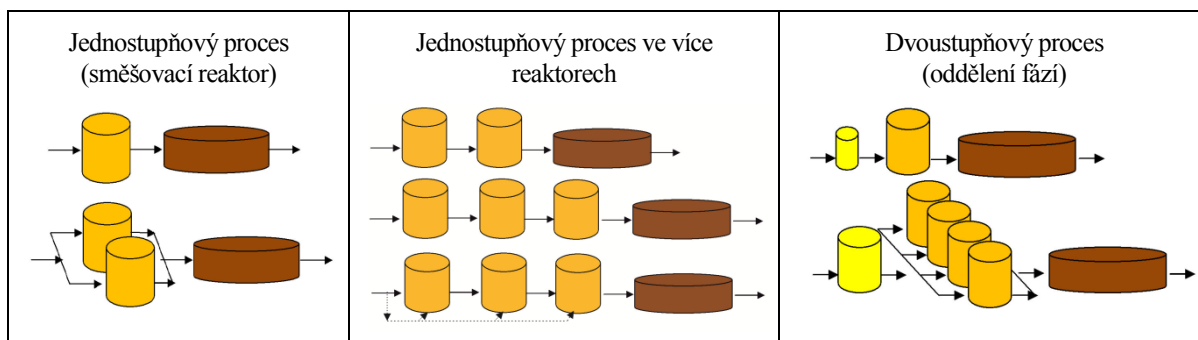
Použití jednoho stupně snižuje náklady na výstavbu, ale má za následek méně kontroly nad reakcemi, ke kterým dochází v rámci systému. Metanogenní bakterie pracují v přísně definovaném rozmezí pH, avšak acidogenní bakterie snižují pH v nádrži produkci kyselin. Proto si mohou navzájem biologické reakce různých druhů v jednostupňovém reaktoru konkurovat. Doba zdržení substrátu bývá 20 – 30 dní. [88, 89]

5.4.2 Dvoustupňový proces

Ve dvoustupňovém fermentačním systému jsou různé fermentační nádrže optimalizovány, aby přinesly maximální kontrolu nad bakteriemi žijícími ve fermentoru. Acidogenní bakterie produkují organické kyseliny, rostou a rozmnožují se rychleji než metanogenní bakterie. Oddělením procesu lze přizpůsobit pH a teplotu pro optimalizaci výkonu metanogenních bakterií. [89, 90]

Za obvyklých okolností dochází k hydrolýze, acidogenezi a acetogenezi v rámci první nádrže. Organický materiál je ohříván na požadovanou provozní teplotu (buď mezofilní, nebo termofilní) a je pumpován do metanogenního reaktoru. [59, 89]

Na obrázku č. 5.8 je schematické znázornění jednostupňového a dvoustupňového procesu.



Obrázek č. 5.8: Jdnostupňový a dvoustupňový proces. [91]

5.5 Faktory ovlivňující fermentaci

Průběh fermentace je ovlivněn celou řadou parametrů, např. zatížení fermentoru a doba zdržení, míchání, složení materiálu, podíl vlhkosti, teplota prostředí, hodnota pH, anaerobní (bezokyslíkaté) prostředí, absence inhibičních biochemických látek, zabránění přístupu světla, přísun živin, atd. [68]

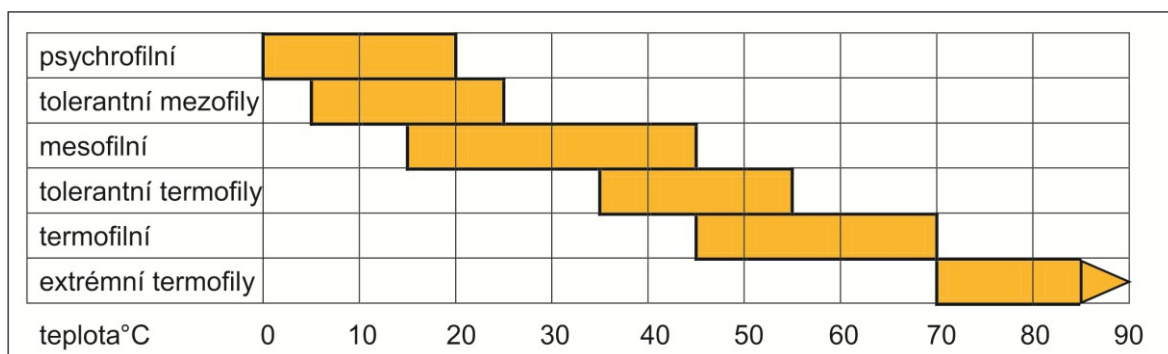
5.5.1 Zatížení fermentoru a doba zdržení

Zatížení reaktoru je významný parametr provozu. Určuje, kolik kilogramů organické sušiny může být přivedeno na m³ objemu fermentoru za jednotku času. Hydraulická doba zdržení udává, jak dlouho setrvá substrát ve fermentoru. [59, 67]

Mezi oběma těmito parametry existuje souvislost, protože při stoupajícím zatížení je přiváděno více substrátu do fermentoru a tím klesá doba zdržení. [59]

5.5.2 Mikroorganismy

Mikroorganismy hrají zásadní roli v procesu fermentace. Na každé fázi fermentace se podílejí specifické mikroorganismy. Tyto mikroorganismy jsou velmi citlivé na teplotu pracovního prostředí a podle této se dělí. Toto dělení je zobrazeno v obrázku č. 5.9.



Obrázek č. 5.9. Teplotní rozdělení typů mikroorganismů [42]:

Problematikou mikroorganismů se podrobněji zabývám v kapitole 5. Fermentace.

5.5.3 Teplota

Obecně platí, že s rostoucí teplotou vzrůstá rychlost probíhajících procesů. [63]

Metanové bakterie jsou činné při teplotě 3 – 70 °C, některé kmeny až při teplotě 90 °C. Při vyšších teplotách hynou, při nižších teplotách přežívají, ale nepracují. [66]

K zajištění dlouhodobé stabilní produkce bioplynu je důležitá stálá teplota ve fermentorech, která se udržuje omezením tepelných ztrát a přísunem tepla pomocí výměníků. [26, 92]

Převážná část anaerobních reaktorů pracuje při teplotách v mezofilní oblasti (30 až 40 °C), některé v oblasti termofilní (45 až 60 °C). [63] Je ovšem třeba zdůraznit, že čím je vyšší teplota procesu, tím je systém citlivější na teplotní výkyvy, které v mezofilní oblasti mohou být v rozmezí 2 až 3 °C kolem střední hodnoty, v termofilní oblasti by neměly být větší než 1 °C. [66]

5.5.4 Míchání

K dosažení vysoké produkce bioplynu je nezbytný intenzivní kontakt bakterií a substrátu, kterého je obecně dosaženo mícháním ve fermentoru. Avšak je třeba se vyhnout příliš rychlému míchání. Acetogenní bakterie a metanogenní bakterie tvoří úzké společenství, které by se mohlo rozbít, což by mělo za následek rozrušení a v nejhorším případě i zastavení procesu. [59, 67]

V nepromíchávaných fermentorech lze po nějaké době pozorovat oddělení obsahu se současnou tvorbou vrstev, což je způsobeno rozdílnou hustotou jednotlivých složek substrátu. Bakterie se nacházejí díky své hustotě ve spodní části fermentoru, zatímco substrát, který má být rozložen, se nachází v horní vrstvě. [59]

V takovém případě jsou kontaktní plochy omezeny na hranice obou vrstev a k degradaci dochází jen ve velmi malé míře. K tomu se vytvoří z plovoucích materiálů vrstva, která komplikuje stoupání plynu. [59, 93] Proto je důležité podporovat kontakt bakterií se substrátem mícháním.

5.5.5 pH

Proces fermentace rovněž ovlivňuje pH. Doporučené pH vstupní směsi je v neutrální oblasti při hodnotách 6,5 – 7,5. [92] Hodnoty pH nižší než 6 a vyšší než 8 výrazně inhibují činnost metanogenních organismů. [63]

U kejdy a hnoje je neutrálního pH většinou dosaženo samovolně ve 2. fázi vyhnívacího procesu. Kyselé substráty jako jsou např. výpalky, syrovátka a siláž je třeba neutralizovat vápnem, aby se hodnota pH zvýšila. [66]

Bakterie jednotlivých fází procesu mají různé pH, při kterém optimálně rostou. pH optimum hydrolizačních a kyselinotvorných bakterií je při pH 4,5 až 6,3. Nemusí však na ní být odkázáni, přežívají i mírně vyšší hodnoty pH, avšak jejich činnost je mírně omezována. Nicméně pro bakterie tvořící kyselinu octovou a metan je potřebné pH v neutrální oblasti 6,8 – 7,5. [59, 67, 94]

5.5.6 Anaerobní prostředí

Metanogenní bakterie patří mezi nejstarší živé organismy na Zemi. Vznikly zhruba před 3 až 4 miliardami let, dlouho před utvořením atmosféry, jak jí dnes známe. To je důvod, proč jsou tyto bakterie ještě dnes odkázány na bezkyslíkaté prostředí. Některé typy mikroorganismů zabíjí už velmi nízká hladina kyslíku. Často ale nelze zcela zabránit zanesení kyslíku. Důvod, proč není jejich aktivita okamžitě potlačena nebo dokonce zcela nezemrou, spočívá v tom, že jsou ve společenství s bakteriemi z předchozích fází. Některé z nich jsou tzv. fakultativně anaerobní bakterie. To znamená, že přežívají jak pod vlivem kyslíku, tak v prostředí zcela bez kyslíku. Pokud není zanesení kyslíkem příliš velké, mohou tyto bakterie spotřebovat kyslík předtím, než uškodí bakteriím, které jsou na prostředí bez kyslíku zcela závislé. [59, 65, 67]

5.5.7 Živiny

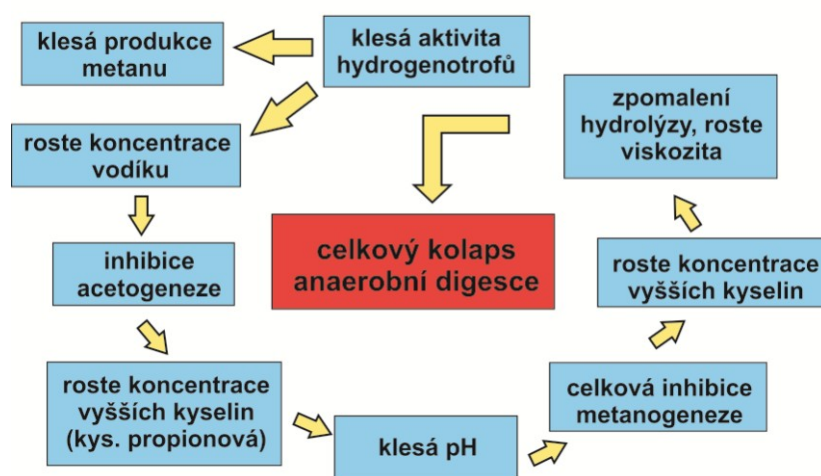
Procesy ve fermentoru lze porovnávat s těmi, které probíhají v trávicím traktu přežvýkavců. Proto bakterie reagují negativně, stejně jako zvířata, na chyby v krmení. [59]

Metanové bakterie potřebují pro svou buněčnou stavbu rozpustné dusíkaté sloučeniny, minerální látky a stopové prvky, např. P, Na, K, Ca, Fe, S, Mg, Se, W, Ni, Co,

Mo, které jsou obsaženy v dostatečném množství v kejdě a hnoji. [63, 69] Poměr živin pro bakterie C : N : P : S by měl být 600 : 15 : 5 : 1. [59]

Aby fermentace probíhala co nejefektivněji, je nutný správný poměr dusíku a fosforu k organickým látkám. Potřebný poměr živin, který vyplývá z bilance produkce biomasy, se udává jako CHSK : N : P v rozmezí 300 – 500 : 6,7 : 1. [63] Důsledky nedostatku stopových prvků ukazuje obrázek č. 5.10.

Důsledky nedostatku stopových prvků



Obrázek č. 5.10: Důsledky nedostatku stopových prvků [95]

5.5.8 Inhibitory

Další významným faktorem ovlivňujícím proces fermentace jsou inhibitory. Těmto inhibitorům je podrobněji věnována kapitola č. 4.3.4 Inhibitory.

5.6 Bioplyn

5.6.1 Složení bioplynu

Obecně se jedná o plynou směs, vzniklou plynotvornou aktivitou specifických mikroorganismů. V technické praxi se pak za bioplyn považuje směs plynů, která vznikla anaerobní fermentací vlhkých organických látek v technických zařízeních [42, 68].

Rychlost tohoto procesu je ovlivněna především složením surovin. Doba fermentace se liší podle složení substrátu. Nízké molekuly cukrů, těkavé mastné kyseliny a alkoholy mohou být rozloženy během několika hodin. Několik dní může trvat degradace hemicelulózy, tuků a bílkovin. Degradace celulózy probíhá v řádu týdnů. Lignin je téměř nerozložitelný, a proto dřevěná biomasa není vhodná pro výrobu bioplynu vzhledem kvůli jeho vysokému obsahu ligninu. [8]

Bioplyn je v ideálním případě složen především z metanu a oxidu uhličitého. V praxi pak obsahuje celou škálu dalších plynů. Jednotlivé zastoupení složek v bioplynu je uvedeno v tabulce č. 5.1.

Tabulka č. 5.1: Složení bioplynu [8]

Látka	[%]
Metan, CH ₄	50,0 – 75,0
Oxid uhličitý, CO ₂	25,0 – 45,0
Vodní pára, H ₂ O	1,0 – 2,0
Dusík, N ₂	1,0 – 5,0
Oxid uhelnatý, CO	0,0 – 0,3
Vodík, H ₂	0,0 – 3,0
Sulfan, H ₂ S	0,1 – 0,5
Kyslík, O ₂	Stopová množství

Dle [42] může bioplyn dále obsahovat Ar, popřípadě HCN, uhlovodíky i jejich deriváty většinou kyslíkaté i sirné. Vodu, sulfan a amoniak je nutné z bioplynu odstranit před jeho spálením v kogeneračních jednotkách. [81]

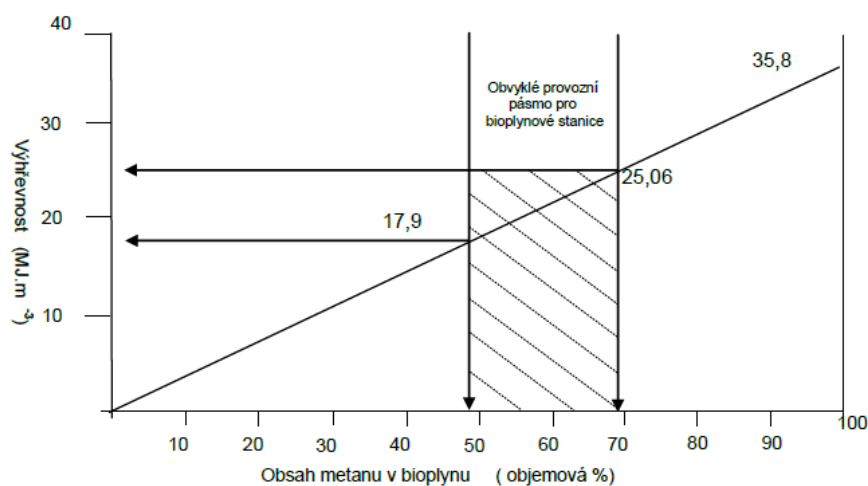
5.6.2 Vlastnosti bioplynu

U bioplynu se sledují tyto základní vlastnosti: objemový podíl jednotlivých složek, výhřevnost, práh vzplanutí, teplota zapálení a měrná hmotnost, které jsou uvedeny v tabulce č. 5.2.

Tabulka č. 5.2: Základní vlastnosti bioplynu a jeho jednotlivých složek [96]

Základní vlastnosti		Bioplyn (60 % CH ₄)	CH ₄	CO ₂	H ₂	H ₂ S	NH ₃	N ₂
Objemový podíl	%	100	45 – 75	25 – 48	0 – 3	0,1 – 1	Stopy	1 – 3
Výhřevnost	MJ/m ³	21,50	35,84		10,80	22,80		
Práh vzplanutí	obj. %	6 – 12	5 – 15		4 – 80	4 – 45	16	
Teplota zapálení	°C	650 – 750	650 – 750		585			
Měrná hmotnost	kg/m ³	1,200	1,200	1,977	0,090	1,540	0,771	1,250

Výhřevnost bioplynu se odvíjí od obsahu metanu, ostatní složky mají zanedbatelný energetický význam. [68] Výhřevnost bioplynu nabývá hodnot od 18 – 25 MJ/m³. Závislost výhřevnosti bioplynu na obsahu metanu je znázorněn v grafu (obrázek č. 5.11).



Obrázek č. 5.11: Výpočet výhřevnosti bioplynu na základě obsahu hlavní složky – metanu [96]

Metan je netoxický bezbarvý plyn, bez zápachu a je lehčí než vzduch. Ve směsi se vzduchem (při 5 – 15 % objemových) tvoří výbušnou směs. Bioplyn podle obsahu

majoritních složek (metanu a oxidu uhličitého) může být lehčí nebo těžší než vzduch. Při obsahu metanu nad 53 % se bioplyn stává lehčím než vzduch. [63]

5.6.3 Výnos bioplynu

Čistým výnosem plynu se označuje takové množství plynu, které zůstane pro použití z hrubého výnosu po odečtení energie potřebné pro podporu procesu. U dobrých, moderních BPS činí čistý výnos 65 až 70 % hrubého výnosu, za předpokladu stoprocentního zužitkování plynu během celého roku. [66]

Množství vyprodukovaného bioplynu v bioplynové stanici závisí především na složení použitého substrátu. Výpočet výtěžnosti bioplynu je v praxi obtížně proveditelný, protože koncentrace jednotlivých živin ve směsi substrátu není známa. [59] Navíc se u takového výpočtu vychází ze stoprocentního rozkladu organických látek, kterého v praxi není dosahováno. Mezi rozkladnými procesy v BPS a trávícími procesy u přežvýkavců existují paralely, na jejichž základě podle obsažených látek a stravitelnosti lze vypočítat teoretický dosažitelný výnos plynu. [59, 97]

K tomuto účelu je potřebné znát klíčové údaje, jako obsah popela, hrubé vlákniny, tuků, bílkovin, apod. [59]

Jednotlivým skupinám látek lze přiřadit specifické výnosy bioplynu, včetně obsahu metanu, které vycházejí z různých podílů uhlíku. [59, 60] V tabulce č. 5.3 je uveden specifický výnos bioplynu a obsah metanu v něm obsaženého. V tabulce č. 5.4 jsou tyto hodnoty uvedeny pro kukuřičnou siláž. V grafu (obrázek č. 5.12) je znázorněna teoretická výtěžnost metanu u vybraných druhů biomasy.

Tabulka č. 5.3: Specifický výnos bioplynu a obsah metanu

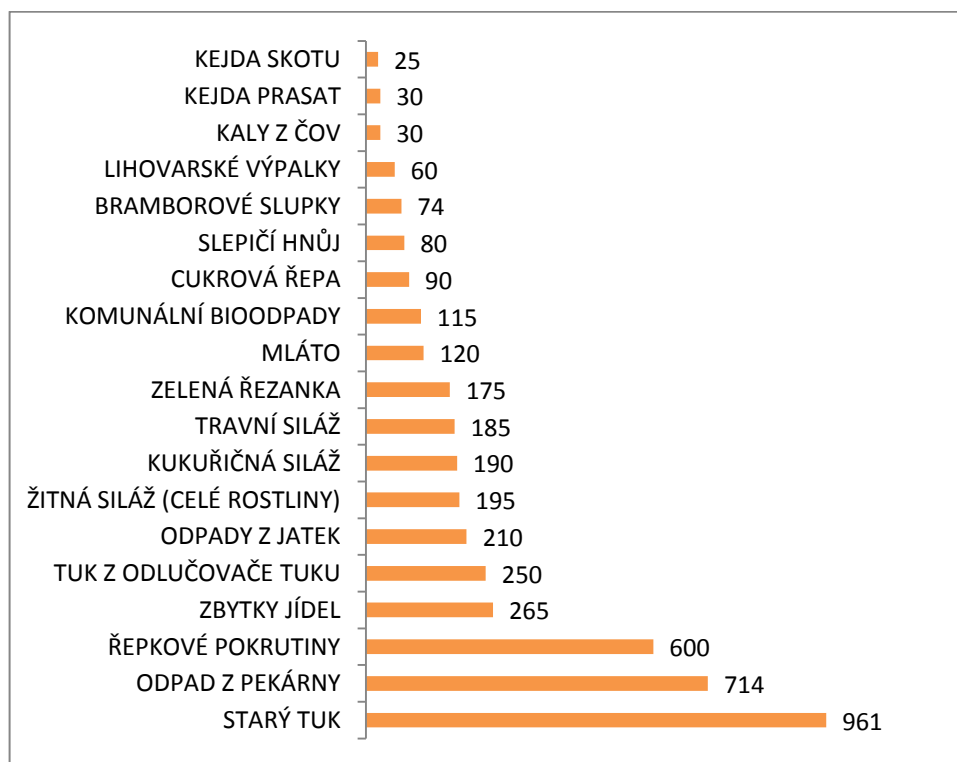
	Výnos bioplynu [l/kg org. sušiny]	Obsah metanu [obj. %]
Stravitelné bílkoviny	600 – 700	70 – 75
Stravitelné tuky	1 000 – 1 250	68 – 73
Stravitelné sacharidy	700 – 800	50 – 55

Z tabulky č. 5.3 je patrné, že nejvyšší měrné výtěžnosti je dosahováno u tuků a nejnižší u sacharidů.

Tabulka č. 5.4: Výnos bioplynu a obsah metanu z kukuřičné siláže (průměr)

	Bioplyn [l/kg org. sušiny]	Metan [l/kg org. sušiny]
Stravitelné bílkoviny	34,72	25,20
Stravitelné tuky	43,25	30,50
Stravitelné sacharidy	453,46	238,10
Suma (na 1 kg org. sušiny)	513,43	293,80

Výtěžnost z 1 m³ kejdy prasat (skotu) podle průzkumů BPS v ČR prováděných sdružením IDEÁL v 2. pololetí 2004 je v průměru 25 m³ bioplynu. Při využití bioplynu v kogenerační jednotce lze z 1 m³ bioplynu získat 1,2 kWh elektrické energie a 1,7 kWh tepla. [92]



Obrázek č. 5.12: Teoretická výtěžnost vybraných druhů biomasy [26]

5.7 Úprava a využití bioplynu

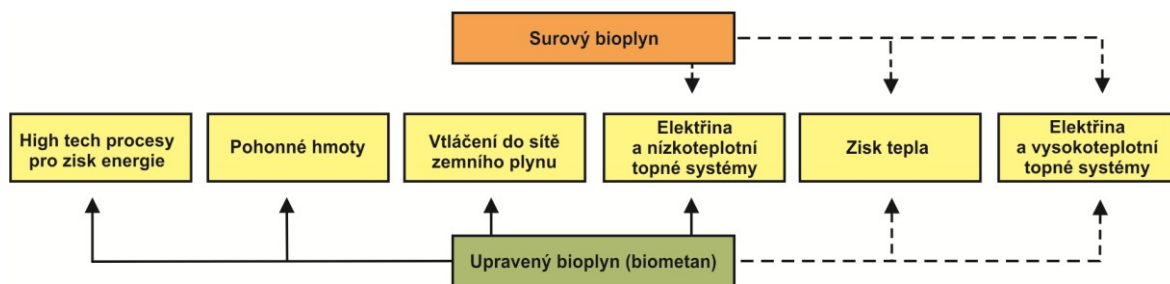
Bioplyn lze využívat různými způsoby (obrázek č. 5.13).

Nejvýhodnější a nejrozšířenější je kogenerace, což je současná výroba elektrické energie a tepla.

Méně výhodnou možností je spalování bioplynu v příslušných hořácích a kotlích k získu tepelné energie.

Další možnosti využití bioplynu je jako palivo pro pohon motorových vozidel nebo jeho přivádění do stávajících distribučních sítí zemního plynu.

Přímé využití získaného surového plynu není obvykle možné kvůli různým příměsím jako např. sulfan. Předpokladem pro jeho další využití je čištění.



Obrázek č. 5.13: Způsoby využití bioplynu.[8]

5.7.1 Čištění bioplynu

Před použitím je třeba surový bioplyn vyčistit od nežádoucích složek, např. vodní páry, sulfanu, oxidu uhličitého, halogenových uhlovodíků. Podle způsobu použití je požadována různá kvalita upravovaného bioplynu.

Sulfan je toxická látka mající korozivní účinky. Jeho spalováním rovněž vzniká jedovatý oxid siřičitý. S vodní párou reaguje za vzniku kyseliny sírové, která způsobuje korozi spalovacího zařízení. [63, 59, 98]

Z bioplynu se rovněž odstraňuje voda a pevné částice, které jej znehodnocují jako pohonnou hmotu. [98]

Nedokonalým spalováním fluorovaných a chlorovaných uhlovodíků, obsažených v bioplynu, se mohou tvořit dioxiny a dibenzofurany. [63]

Přítomnost sloučenin fluoru, chloru, síry a fosforu ve spalinách znemožňuje katalickou redukci NO_x . [63]

Odsiřování

Při čištění bioplynu můžeme rozlišovat mezi biologickými a chemickými a postupy.

Biologické odsiřování může probíhat jak přímo ve fermentoru, kde bakterie převádějí sulfan na elementární síru v aerobním prostředí, tak mimo fermentor, kde probíhá odsiřování v oddělených samostatných nádržích. Sulfan může být z bioplynu rovněž odstraněn pomocí sorpce na biofiltru. [59, 63]

Chemické odsiřování probíhá rovněž ve fermentorech přidáváním chemických látek, např. solí železa, které váží síru a tím znemožňují uvolňování sulfanu. [59, 99] Odsiřování mimo fermentor je prováděno alkalickým roztokem, obvykle hydroxidem sodným. [59]

Sušení

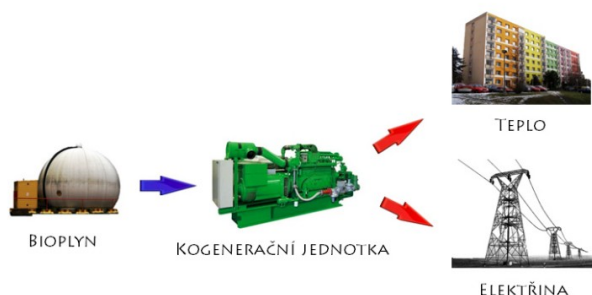
O sušení mluvíme v souvislosti s odstraňováním vlhkosti z bioplynu. Jedná se o preventivní opatření proti korozi zařízení využívajících bioplyn.

K ochraně čistící jednotky plynu proti vysokému opotřebení a zničení musí být z bioplynu odebrána vodní pára. Množství vody případně vodní páry, které může bioplyn obsahovat, závisí na teplotě plynu. Relativní vlhkost bioplynu ve fermentoru je 100 %, bioplyn je tedy nasycen vodní parou. Část páry se z důvodu chlazení sráží jako kondenzát. [59]

Vodu a škodlivé plyny je možno z bioplynu odstranit ochlazením bioplynu chladícím agregátem. [66] Ve výměníku tepla dochází k ochlazení bioplynu a kondenzát je odstraněn z bioplynu. K ochlazení bioplynu se může rovněž využívat přímo plynovod, avšak předpokladem je jeho dostatečná délka. Vedením plynovodu pod zemí je chladicí efekt vyšší. Po ochlazení může být plyn znovu ohříván, čímž se zabrání kondenzaci při dalším postupu plynovým potrubím. [59]

5.7.2 Kombinovaná výroba tepla a elektřiny – kogenerace

Nejvýhodnější a nejrozšířenější využití bioplynu je kogenerace (obrázek č. 5.14), což je kombinovaná výroba elektřiny a tepla (KVET).



Obrázek č. 5.14: Kogenerace [100]

Bioplyn je spalován ve spalovacích motorech spojených s agregátem na výrobu elektrické energie za současného vzniku odpadního tepla, které je dále využíváno. Motory běží konstantní rychlostí 1 500 ot/min s přímo vázaným generátorem elektrické energie, která je kompatibilní se sítovou frekvencí. [59]

Kogenerační jednotky pracují s 38% elektrickou a 45% tepelnou účinností, která se může nepatrně lišit u jednotlivých výrobců. [100]

5.7.3 Tepelné využití bioplynu

Spalování v topných systémech je nejstarší metodou využívání bioplynu. Část tepla se používá pro ohřev fermentorů a zbytek tepelné energie je využíván k vytápění budov nebo k ohřevu užitkové vody. V letních měsících se často využívá místo k vytápění jako zdroj tepla pro sušení různých zemědělských produktů. [63]

Spalování bioplynu je jednoduché, avšak je nutno počítat s výměnou kovových částí spalovacího zařízení, které korodují v důsledku sulfanu obsaženého v bioplynu. [59] Přímé spalování bioplynu není natolik ekonomicky výhodné v porovnání s KVET.

5.7.4 Trigenerace

Trigenerace je kombinovaná výroba elektrické energie, tepla a chladu. K tomu účelu slouží trigenerační jednotka, což je kogenerační jednotka spojená s absorpční chladicí

jednotkou. [101] K přeměně odpadního tepla v chlad dochází sorpčním způsobem, který je známý například z ledniček. [59]

Trigenerace je výhodná zejména z důvodu maximalizace využití odpadního tepla, které má v letních měsících omezené uplatnění. Vyrobený chlad se využívá nejčastěji pro klimatizaci budov. [102]

5.7.5 Injektáž do sítě zemního plynu

Pro injektáž bioplynu do sítě zemního plynu je třeba čištění bioplynu (sušení a odsiřování) a úprava na kvalitu zemního plynu (separace metanu a oxidu uhličitého), čímž se rozšíří možnosti využití bioplynu v několika směrech v závislosti na potřebách společnosti. [8, 59]

Je to alternativou k výrobě elektřiny a tepla z bioplynu [103, 104], což vede ke snížení ztrát energie přepravou. Typická ztráta energie v přenosových soustavách zemního plynu je v rozsahu 1 – 2 %, zatímco současné energetické ztráty na velkých elektrických systémech se pohybují od 5 – 8 %. [103, 105]

Bohužel tato alternativa zatím není příliš rozšířená, pro své vysoké náklady na zařízení na úpravu bioplynu a relativně vysokou spotřebu energie. [59]

5.7.6 Pohonné hmoty pro motorová vozidla

Využití bioplynu jako paliva pomáhá k nahrazení fosilních paliv.



Obrázek č. 3.15: Využití bioplynu jako paliva [100]

Aby mohl být bioplyn používán jako pohonná hmota pro vozidla, musí být upraven na kvalitu přijatelnou pro použití v současných automobilových motorech spalujících CNG (stlačený zemní plyn). [59, 100] (obrázek č. 3.15)

Provoz automobilů na biometan a CNG je přínosný z důvodu nižších provozních nákladů, tiššího chodu, bezpečnějšího provozu a v neposlední řadě také díky nejnižším emisím skleníkových plynů v porovnání s alternativními palivy. [106]

Z důvodu investičních nákladů na potřebná zařízení je toto řešení vhodné pro stanice s produkcí bioplynu minimálně 2 500 m³ denně. [59]

5.7.7 Digestát jako hnojivo

Digestát je tvořen pevnými zbytky původního materiálu vstupujícího do fermentoru, které mikroorganismy nejsou schopny využít a to především z ligninu a celulózy. Dále se skládá z mineralizovaných zbytků odumřelých bakterií z fermentoru. [107, 103, 108, 109]

Aby bylo možno digestát a perkolát využít jako hnojivo, musí splňovat procesní hygienizační parametry, limitní hodnoty rizikových prvků a indikátorových organismů, dle platné legislativy. [107, 110]

Podmínky uvádění do oběhu, skladování a používání hnojiv, pomocných půdních látek, pomocných rostlinných přípravků a substrátů, podmínky agrochemického zkoušení zemědělských půd, podmínky zjišťování půdních vlastností lesních pozemků a některé podmínky používání upravených kalů upravuje zákon č.156/1998 Sb., ve znění pozdějších předpisů. [111]

Pro digestát je stanoven požadavek na minimální obsah živin 25 % spalitelných látek a 0,6 % celkového obsahu anorganického dusíku v sušině. [107]

Použití digestátu jako hnojiva je diskutabilní, což vyplývá ze studie provedené na Zemědělské fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Tato studie má za cíl zjistit kvalitu kapalné a pevné fáze odpadů jako hnojiva z procesu anaerobní digesce. Vstupním substrátem byla směs kejdy prasat a primárního kalu z městské čistírny odpadních vod v poměru 1 : 1. [112]

Výsledky studie vedly k překvapivému závěru: „*Kaly jako odpad z procesů anaerobní digesce jsou hnojivem spíše minerálním, než organickým a že z hlediska užití jako organické hnojivo jsou mnohem méně jakostním materiálem, než výchozí suroviny. O zušlechtění organického materiálu anaerobní digescí nelze vůbec mluvit. Jejich kapalná fáze spíše se dá pokládat za hnojivo, než fáze pevná.*“ [112]

6. Aplikace travní hmoty v bioplynové stanici

Pro efektivní proces anaerobní fermentace je důležité zaměřit se na látky obsahující energeticky bohaté molekuly uhlíku, vodíku a dusíku, které jsou při fermentaci využívány bakteriemi jako zdroj energie. Vzhledem k malé biologické rozložitelnosti celulózy a jejích derivátů a také přítomnosti ligninu ve fytomase je pouze část přítomného organického uhlíku při anaerobní fermentaci transformována na bioplyn a značná část zůstává nevyužita.

6.1 Metody předúpravy surovin

Zvýšení výtěžnosti bioplynu lze dosáhnout vhodnou předúpravou surovin. Jedná se o metody založené na zpřístupnění složek materiálu enzymovému rozkladu.

Hlavní důraz je kladen především na efektivitu a nenákladovost metody, především tedy v minimálních energetických požadavcích na rozmělnění substrátu a současně zabránění znečištění substrátu. [113]

Tyto metody lze rozdělit na mechanické, chemické, fyzikální a biotechnologické.

6.1.1 Mechanické metody

Mechanické metody jsou založeny na dezintegraci tuhých složek substrátu, a tím dochází ke zvětšení celkového povrchu, snížení krystalinity a stupně polymerizace celulózy, čímž se zlepší přístupnost organických látek v substrátu enzymatickému rozkladu. [113, 114, 115, 116] Mezi mechanické metody patří např. drcení a mletí.

Tyto metody se nejčastěji používají jako předstupeň před dalším zpracováním. [113]

6.1.2 Chemické metody

Chemické metody jsou založeny na dezintegraci složitých organických látek – hydrolýze působením alkálií, organických i anorganických kyselin, organických rozpouštědel nebo oxidačních činidel. [113, 114, 117, 118, 119]

Tyto metody jsou v porovnání s ostatními metodami neúčinnější, avšak jejich nevýhodou je možnost zavedení toxických látek a inhibitorů do substrátu, koroze reaktorů a finanční náročnost regenerace a recyklace použitých chemikálií. [113] Mezi chemické metody patří např. kyselá hydrolýza, alkalická hydrolýza, solvolýza a ozonolýza.

6.1.3 Fyzikální metody

Fyzikální metody jsou založeny na destrukci složitých organických látek. [114, 118, 119, 120]. Jedná se o metody založené na temperaci substrátu. [113] Mezi fyzikální metody patří např. termická hydrolýza [114], ionizující záření [114], působení ultrazvuku [114], extruze [113], pyrolýza [113], pasterizace [114], hygienizace [114].

6.1.4 Biotechnologické metody

Biotechnologické metody jsou speciálním případem předúpravy substrátu, při kterém se využívají komerčně vyráběné enzymy, např. celulózy [114, 121, 122], mikroorganismy s vysokou celulóзовou aktivitou – bachorové kultury [47, 114, 123] nebo anaerobní houby [114, 124, 125]

Mikroorganismy rostoucí při teplotách kolem 10 – 45 °C jsou považovány za mezofilní organismy. Mnoho bakterií, hub a rostlin rostoucích při této teplotě hrají významnou roli v koloběhu uhlíku na Zemi. Rostliny aktivně vážou CO₂ do stěny rostlinných buněk, zejména celulóza, hemicelulóza a lignin. Tyto sloučeniny tvořící převážnou část biomasy na Zemi jsou poměrně stabilní polymery biomasy, ale jsou degradovány působením mikroorganismů, které jsou schopny hydrolyzovat celulózu a hemicelulózu až na hexózy a pentózy, které používají pro svůj růst (metabolicky) a výživu. K dispozici je velké množství bakterií a hub, které mohou degradovat stěny rostlinných buněk, některé z nich uvedu níže. [126]

Mezofilní aerobní celulotické bakterie

Mezofilní aerobní celulotické bakterie se vyskytují: **v půdě** (*Bacillus megaterium* [127], *Bacillus pumilus* [128], *Cellulomonas fimi* [129], *Cellulomonas flavigena* [130], *Cellulomonas gelida* [131], *Cellvibrio mixtus* [132], *Pseudomonas fluorescens* [133], *Streptomyces antibioticus* [134], *Streptomyces cellulolyticus* [135], *Streptomyces lividans* [136] a *Streptomyces reticuli* [137], **odumřelých rostlinách** (*Bacillus pumilus* [128]), **hrabance** (*Cellulomonas flavigena* [130]), **lesní humusové půdě** (*Cellulomonas iranensis* [138], *Cellulomonas persica* [138]), **na polích cukrové třtiny** (*Cellulomonas uda* [139]), **ve výkalech hovězího dobytka** (*Cellvibrio gilvus* [140]), **popř. ve vodě** (*Pseudomonas fluorescens* [133]). [126]

Mezofilní anaerobní bakterie s aktivními celulólytickými systémy

Mezofilní anaerobní bakterie se vyskytují ve **splaškových kalech** (*Acetivibrio cellulolyticus* [141, 142], *Bacteroides cellulosolvens* [143]), **v batoru přežvýkavců** (*Fibrobacter succinogenes* [144], *Ruminococcus albus* [145], *Ruminococcus flavefaciens* [146]), **v batoru hovězího dobytka** (*Butyrivibrio fibrisolvens* [147]), **v půdě** (*Clostridium acetobutylicum* [148], *Clostridium cellobioparum* [149], *Clostridium hungatei* [150]), **v půdě mléčných farem** (*Clostridium cellulofermentans* [151]), **v rozkládající se trávě** (*Clostridium cellulolyticum* [152]), **ve štěpce** (*Clostridium cellulovorans* [153]), **ve střevech prasat** (*Clostridium herbivorans* [154]), **v kompostu** (*Clostridium josui* [155]), **popř. v papírnách** (*Clostridium papyrosolvens* [156]).

Aerobní houby

Aerobní houby se vyskytují v půdě, rozkládajícím se dřevě a v zemědělském odpadu. [126] Jedním z nejvíce studovaných a průmyslově důležitým zástupcem je *Trichoderma reesei* [157], dalšími zástupci, jsou: *Aspergillus niger* [158], *Phanerochaete chrysosporium* [159], *Piptoporus betulinus* [160], *Pycnoporus cinnabarinus* [161], *Rhizopus stolonifer* [162], *Serpula lacrymans* [163] a *Sporotrichum pulverulentum* [164].

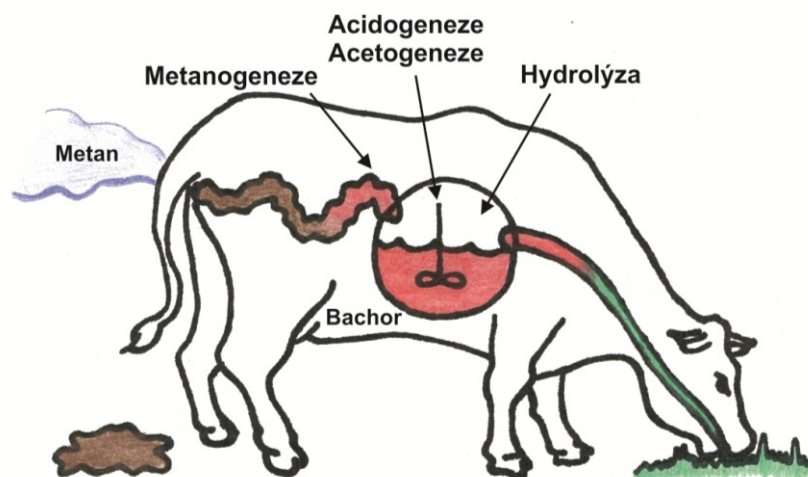
Anaerobní houby

Anaerobní houby se vyskytují v batoru a střevním traktu velkých býložravců. [126] Tyto houby zastupují až 8 % mikrobiální biomasy v batoru a aktivně kolonizují buněčné stěny. Tím zajistí přístup do rostlinného materiálu, který je následně k dispozici pro další batorové mikroorganismy. [165] Anaerobní houby, na rozdíl od aerobních, produkují multienzymové celulózo-hemicelulázové komplexy podobné bakteriálním celulozomům. [166, 167] Enzymové komplexy jsou mimořádně aktivní a mohou degradovat amorfní i krystalickou celulózu. Zástupci jsou např.: *Anaeromyces mucronatus* 543 [168], *Caecomyces communis* [169], *Cyllamyces aberensis* [170], *Neocallimastix frontalis* [171], *Orpinomyces* sp. [172], *Piromyces* sp. [173], *Piromyces equi* [174], *Piromyces* sp. Strain E2 [175].

Na základě studia jednotlivých metod jsem si vybrala biotechnologickou metodu využívající anaerobní houby. Pro testy jsem zvolila čistou kulturu *Anaeromyces mucronatus* vyskytující se v batorové kultuře velkých přežvýkavců, protože rozkladné

procesy v BPS jsou shodné s procesy probíhajícími v trávicím traktu těchto přežvýkavců. (obrázek č. 6.1)

Anaerobní houby produkují komplex enzymů, které napomáhají štěpení celulózy a hemicelulózy, čímž zpřístupňují substrát pro anaerobní bakterie, který by pro ně byl jinak nedostupný. [53]



Obrázek č. 6.1: Anaerobní digesce v trávicím traktu skotu [176]

ANAEROMYCES MUCRONATUS

Anaeromyces mucronatus patří do říše *Fungi*, třídy *Neocallimastigomycetes*, řádu *Neocallimastigales* a čeledi *Neocallimastigaceae*. [177]

Kmen *Anaeromyces mucronatus* KF8 byl izolován z bachorových tekutin krávy. [53] Optimální teplota prostředí, ve kterém houba roste, je v rozmezí 37,5 – 39,5 °C, stejně jako je tělesná teplota krávy, optimální pH je mírně alkalické. Tyto houby produkují H₂, CO₂, mastné kyseliny aj., které jsou využívány metanogenními bakteriemi. [125]

6.2 Laboratorní zázemí

Experimenty v rámci diplomové práce byly provedeny v Chemické laboratoři Institutu geologického inženýrství (IGI) na Vysoké škole báňské – Technické univerzitě Ostrava (VŠB – TUO), dále laboratoř.

6.2.1 Experimentální zařízení

Jednotlivé experimenty jsem prováděla v laboratorních fermentačních reaktorech.

Laboratorní fermentační reaktory (velké fermentory)

V laboratoři jsou dva velké fermentační reaktory, které slouží k simulaci procesu probíhajících ve fermentorech bioplynových stanic.

Fermentor Sartorius Biostat

Laboratorní fermentační reaktor se skládá z fermentoru a řídicí jednotky (obrázek č. 6.2). Fermentor je tvořen skleněnou nádobou o objemu 10 l a je hermeticky uzavřen. Vyhřívání je realizováno pomocí vody kolující ve dvojité stěně nádoby. Míchání je zajištěno pomocí míchadla se dvěma vrtulemi v různých výškových hladinách. Vzniklý bioplyn je jímán přes pryžovou hadici do plynojemu (obrázek č. 6.3). Odtud je plyn odváděn k analýze na plynovém chromatografu, kde se měří jeho objem a procentuální zastoupení jednotlivých složek. Řídicí jednotka zobrazuje a reguluje teplotu a pH a navíc je schopna regulovat otáčky míchání.



Obrázek č. 6.2: Laboratorní fermentační reaktor s řídicí jednotkou



Obrázek č. 6.3: Plynojem

Fermentor typu DCU 300

Tento fermentor pracuje na stejném principu jako fermentor Sartorius Biostat, liší se pouze způsobem vyhřívání, které je zajištěno topnou vložkou z vnější strany nádoby. (obrázek č. 6.4)



Obrázek č. 6.4: Laboratorní fermentační reaktor typu DCU 300

Laboratorní fermentační reaktory (malé fermentory)

V laboratoři je 12 malých fermentačních reaktorů, které rovněž slouží k simulaci procesu probíhajících ve fermentorech bioplynových stanic.

Malý fermentor (obrázek č. 6.5) se skládá ze skleněné nádoby o objemu 1 l, přepouštěcího uzávěru a Taedlarova vaku na jímání bioplynu. Odtud je plyn odváděn k analýze na plynovém chromatografu, kde se měří jeho objem a procentuální zastoupení jednotlivých složek. K vyhřívání fermentorů dochází v termostatované skříni (obrázek č. 6.6). Míchání je zajištěno pomocí magnetického míchadla.



Obrázek č. 6.5: Laboratorní fermentační reaktor



Obrázek č. 6.6: Vyhřívání vzorků v termostatované skříni

6.2.2 Prováděné rozborů

Vstupní a výstupní analýza

U jednotlivých vzorků byla provedena vstupní a výstupní analýza. V rámci této analýzy byly určeny následující parametry:

- Základní fyzikální vlastnosti: pH, teplota, vodivost
- CHSK
- TOC
- $N_{\text{celk.}}$, $N\text{-NH}_4$
- $P_{\text{celk.}}$
- RL
- NL
- Obsah makrokomponentů: lignin, celulóza a hemicelulóza

Výsledky vstupních a výstupních analýz jsou uvedeny v kapitole č. 6.3 Realizace experimentů

Průběžně sledované veličiny

U jednotlivých vzorků byly v průběhu experimentů měřeny následující parametry:

- pH
- Teplota
- Analýza výstupního bioplynu. V rámci této analýzy byly sledovány následující hodnoty:
 - Množství bioplynu
 - Procentuální zastoupení CH_4 a CO_2

Výpočet teoretické výtěžnosti bioplynu a teoretické koncentrace metanu v bioplynu

Na základě vstupní analýzy byla pro jednotlivé vzorky vypočtena teoretická výtěžnost metanu v bioplynu podle rovnice (9). [178]

$$Y_{\text{CH}_4, g}^{\text{teor}} = 0,35 \text{ CHSK} \quad [\text{l/g}] (\text{CH}_4^*, \text{ substrát}) \quad (9)$$

(-platí pro standardní podmínky, teplota 0 °C, tlak 101,3 kPa)*

V kapitole 6.4 Vyhodnocení je uvedeno porovnání těchto teoretických hodnot se skutečně dosaženými hodnotami.

6.3 Realizace experimentů

V rámci realizace diplomové práce jsem navštívila bioplynové stanice Klokočov a Velké Albrechtice. Z jednotlivých stanic jsem odebrala vzorky vždy z prvního fermentoru pro následující experimenty.

Vzorky byly odebrány a v týž den připraveny v laboratoři VŠB-TUO.

Složení vsázky:

Ve vsázce do fermentorů se uplatňují komponenty uvedené v následujících tabulkách (tabulky č. 6.1 a 6.2)

Tabulka č. 6.1: Složení vsázky z BPS Klokočov

Složení	Obsah [%]
Slamnatý hnůj	6,31
Řízky	19,40
Senáž	7,28
Řepa	7,76
Glycerín	1,94
Kejda	32,01
Kaly Biocel Paskov	19,40

Tabulka č. 6.2: Složení vsázky z BPS Velké Albrechtice

Složení	Obsah [%]
Cukrovarné řízky	16,64
Kukuřičná siláž	22,88
Kejda	10,40
Treonin	4,68
Kaly Biocel Paskov	23,98
Biologický odpad	2,18
Bioalgeen	17,68
Krev	1,56

K předúpravě vzorků jsem se rozhodla použít anaerobní houbu *Anaeromyces mucronatus* KF8. Tuto houbu jsem získala z Ústavu živočišné fyziologie a genetiky AV ČR. Houby byly kultivovány v lahvičkách o objemu 75 ml z důvodu vyššího nárustu kolonií na objem kultivačního média (obrázek č. 6.7). Protože je tato houba velmi citlivá na změny teplot, bylo nutné ji převážet v termoboxu s automatickou termoregulací. (obrázek č. 6.8)

Na AV ČR bylo používáno ředění 1 : 5, v našich experimentech jsem se rozhodla použít větší ředění, a to: v malých fermentorech 1 : 6 a ve velkých fermentorech 1 : 7,5.



Obrázek č. 6.7: *Anaeromyces mucronatus* KF8



Obrázek č. 6.8: *Anaeromyces mucronatus* v termoboxu

6.3.1 Experiment č. 1

V rámci experimentu č. 1 bylo do malých fermentorů č. 1.A a 1.B nadávkováno 450 ml substrátu z BPS Velké Albrechtice. (obrázek č. 6.9)

Reaktory se vzorky byly uloženy do termostatované skříně. Pátý den experimentu bylo ke vzorkům přidáno 75 ml živného média s anaerobními houbami *Anaeromyces mucronatus* KF8. Dle AV ČR byla doporučená teplota prostředí pro tyto houby 39 °C. Jelikož termostatovaná skříň mohla udržovat maximální teplotu pouze 37 °C, byla nastavena tato maximální teplota.



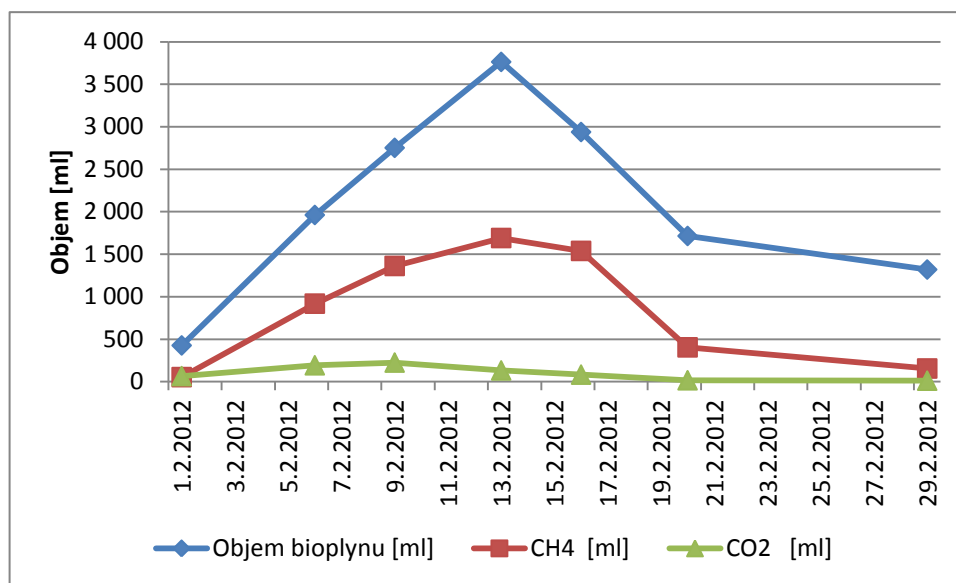
Obrázek č. 6.9: Plnění malých fermentorů 1.A a 1.B

Vizuální kontrola průběhu procesu (míchání, tvorba bioplynu a jeho jímání do Taedlarova vaku) byla prováděna jednou denně v pracovní dny. Měření objemu vznikajícího bioplynu a chemická analýza bioplynu - stanovení CH₄ a CO₂, byla prováděna 2 krát týdně až do ukončení procesu. Aby nebylo narušeno anaerobní prostředí uvnitř fermentoru bylo pH měřeno pouze na začátku a na konci experimentu.

Průběh a výsledky experimentu jsou uvedeny v následujících tabulkách a grafech. (tabulky č. 6.3 a 6.4 a obrázky č. 6.10 a 6.11)

Tabulka č. 6.3: Průběh a výsledky experimentu č. 1 – Velké Albrechtice

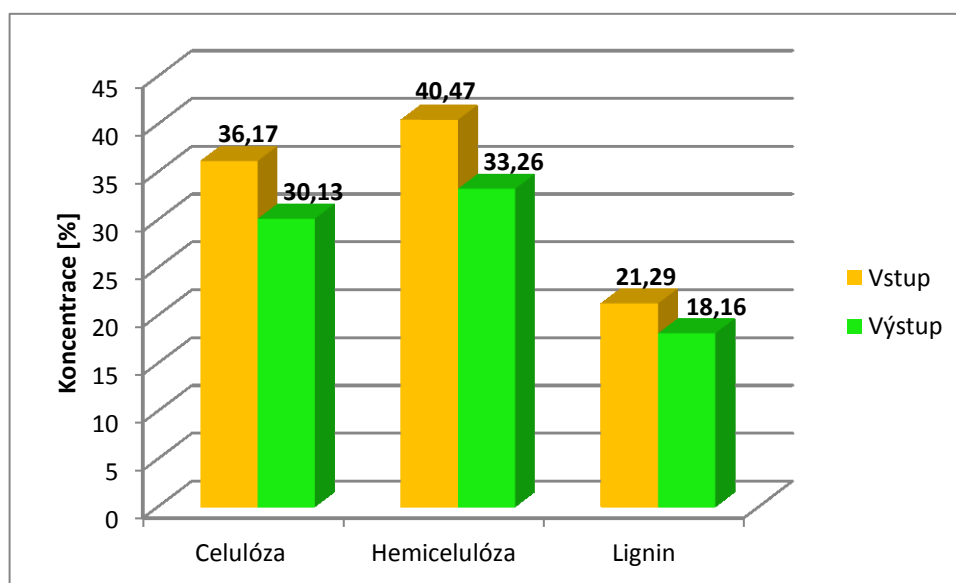
Počet dní	pH	Objem bioplynu [ml]	CH ₄ [ml]	CO ₂ [ml]	CH ₄ [%]	CO ₂ [%]
5	6,80	427,00	53,93	66,06	12,63	15,47
10	6,75	1 962,00	918,61	193,26	46,82	9,85
13		2 752,00	1 361,96	225,39	49,49	8,19
17		3 763,00	1 690,72	132,83	44,93	3,53
20		2 938,00	1 538,92	83,44	52,38	2,84
24		1 715,00	404,23	16,81	23,57	0,98
33		1 320,00	155,50	12,28	11,78	0,93
Σ		14 877,00	6 123,87	730,06		
Výtěžnost [dm³/kg sušiny]		618,07	254,42			



Obrázek č. 6.10: Produkce bioplynu v závislosti na čase - substrát z Velkých Albrechtic

Tabulka č. 6.4: Analýza vstupního substrátu a výstupu z technologie - experiment č. 1

Sledovaný parametr	Jednotka	Vstup	Výstup	Rozdíl	Rozdíl (%)
pH		8,03	8,53	—	—
Vodivost	mS/cm	15,86	23,40	—	—
RL 105 °C	g/l	73,20	47,48	—	—
RL 550 °C	g/l	53,51	23,04	30,47	56,94
NL	g/l	60,47	37,40	—	—
CHSK _{Cr}	g/l	187,50	85,24	102,26	54,54
TOC	mg/l	3 582,00	2 471,00	1 111,00	31,02
N _{celk}	mg/l	1 964,00	2 194,00	—	—
NH ₄	mg/l	1 885,63	1 787,05	—	—
N-NH ₄	mg/l	1 414,22	1 340,29	—	—
N-NH ₄	% N _{celk}	72,01	61,09	—	—
P _{celk}	mg/l	327,25	—	—	—
Celulóza	%	36,17	30,13	6,04	16,70
Hemicelulóza	%	40,47	33,26	7,21	17,82
Lignin	%	21,29	18,16	3,13	14,70
Poměr C/N		1,82	1,13	—	—



Obrázek č. 6.11: Obsah majoritních komponent na vstupu a výstupu experimentu č. 1

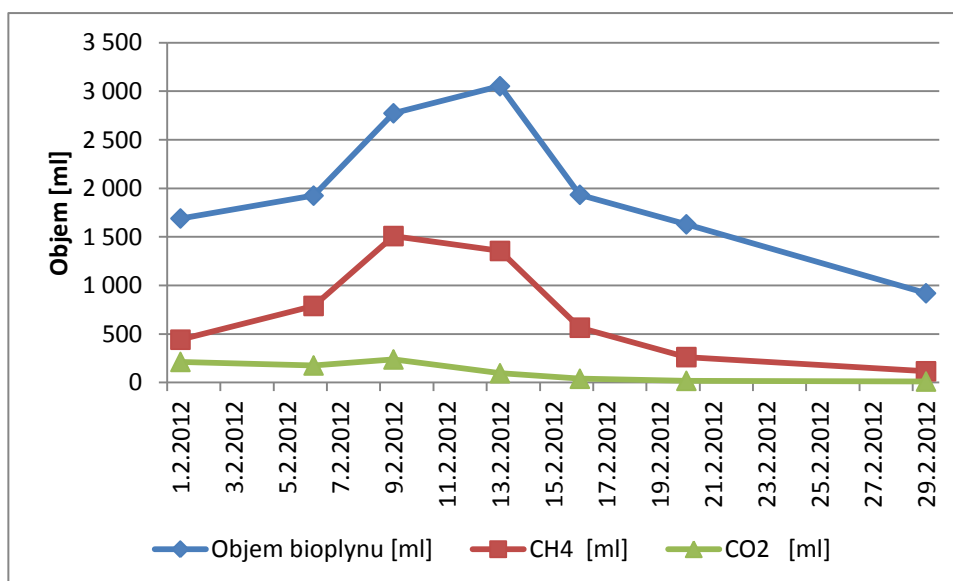
6.3.2 Experiment č. 2

V rámci experimentu č. 2 bylo do malých fermentorů č. 2.A a 2.B nadávkováno 450 ml substrátu z BPS Klokočov. Experiment č.2 probíhal za stejných podmínek jako experiment č.1.

Průběh a výsledky experimentu jsou uvedeny v následujících tabulkách a grafech. (tabulky č. 6.5 a 6.6 a obrázky č. 6.12 a 6.13)

Tabulka č. 6.5: Průběh a výsledky experimentu č. 2 – substrát BPS Klokočov

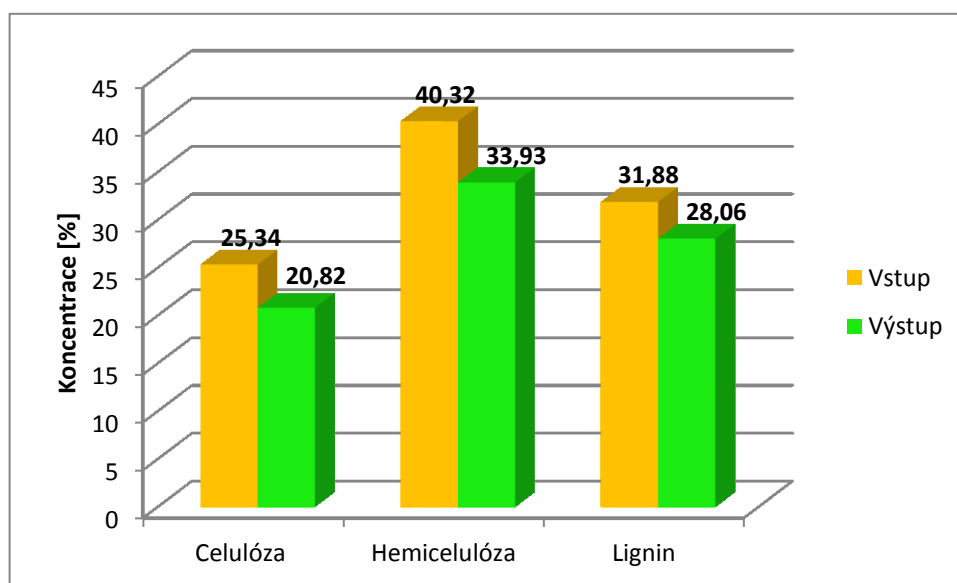
Počet dní	pH	Objem bioplynu [ml]	CH ₄ [ml]	CO ₂ [ml]	CH ₄ [%]	CO ₂ [%]
5	7,95	1 690,00	441,77	213,45	26,14	12,63
10	7,98	1 925,00	789,44	177,10	41,01	9,20
13		2 773,00	1 508,79	238,76	54,41	8,61
17		3 052,00	1 355,70	96,44	44,42	3,16
20		1 934,00	565,50	40,03	29,24	2,07
24		1 630,00	262,76	18,58	16,12	1,14
33		920,00	116,50	11,32	12,67	1,23
Σ		13 924,00	5 040,52	795,68		
Výtěžnost [dm³/kg sušiny]		824,88	298,61			



Obrázek č. 6.12: Produkce bioplynu v závislosti na čase - experiment č. 2

Tabulka č. 6.6: Analýza vstupního substrátu a výstupu z technologie – experiment č. 2

Sledovaný parametr	Jednotka	Vstup	Výstup	Rozdíl	Rozdíl (%)
pH		8,26	8,55	–	–
Vodivost	mS/cm	23,50	25,80	–	–
RL 105 °C	g/l	44,73	48,04	–	–
RL 550 °C	g/l	37,53	21,26	16,27	43,35
NL	g/l	30,67	24,80	–	–
CHSK _{Cr}	g/l	150,20	76,25	73,95	49,23
TOC	mg/l	2 964,00	2 210,00	754,00	25,44
N _{celk}	mg/l	1 783,00	1 716,00	–	–
NH ₄	mg/l	1 757,19	1 646,77	–	–
N-NH ₄	mg/l	1 317,89	1 235,08	–	–
N-NH ₄	% N _{celk}	73,91	71,97	–	–
P _{celk}	mg/l	278,59		–	–
Celulóza	%	25,34	20,82	4,52	17,84
Hemicelulóza	%	40,32	33,93	6,39	15,85
Lignin	%	31,88	28,06	3,82	11,98
Poměr C/N		1,66	1,29	–	–



Obrázek č. 6.13: Obsah majoritních komponent na vstupu a výstupu experimentu č. 2

6.3.3 Experiment č. 3

V rámci experimentu č. 3 bylo do fermentoru Sartorius Biostat nadávkováno 4 500 ml vzorku z BPS Velké Albrechtice (obrázek č. 6.14). Pátý den experimentu bylo přidáno 600 ml živného média s anaerobními houbami *Anaeromyces mucronatus* KF8.



Obrázek č. 6.14: Fermentor Sartorius Biostat se vzorkem BPS Velké Albrechtice před přidáním anaerobních hub

Na řídicí jednotce byla nastavena teplota 39 °C. Vizualní kontrola průběhu procesu (míchání, tvorba bioplynu a jeho jímání do plynojemu) byla prováděna jednou denně v pracovní dny. Měření objemu vznikajícího bioplynu a chemická analýza bioplynu - stanovení CH₄ a CO₂, byla prováděna podle tvorby bioplynu přibližně 1 týdně až do ukončení procesu. pH prostředí bylo snímáno kontinuálně a zobrazováno na řídicí jednotce.

Při měření ze 13. dne experimentu jsem zjistila, že proces se vzniku bioplynu utlumil. Po vzoru malých fermentorů jsem se rozhodla snížit teplotu na 37 °C. Po této změně teploty prostředí došlo opět k nárustu tvorby bioplynu.

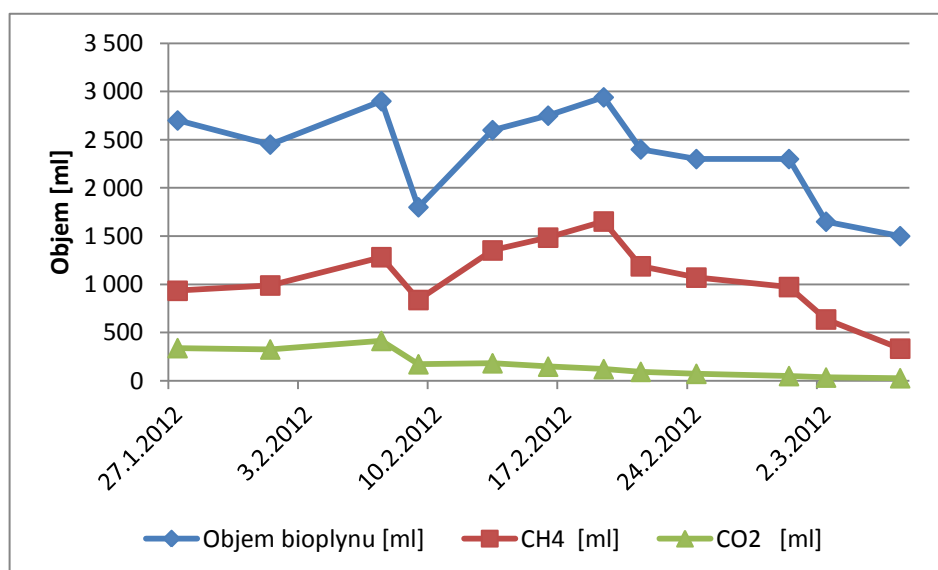
Průběh a výsledky experimentu jsou uvedeny v následujících tabulkách a grafech. (tabulky č. 6.7 a 6.8, obrázky č. 6.15 a 6.16)

Tabulka č. 6.7: Průběh a výsledky experimentu č. 3 – Velké Albrechtice

Počet dní	pH	Objem bioplynu [ml]	CH ₄ [ml]	CO ₂ [ml]	CH ₄ [%]	CO ₂ [%]	Pozn.
1	6,80	2 700,00	933,66	339,12	34,58	12,56	1)
5		2 450,00	988,82	325,36	40,36	13,28	2)
11	7,11	2 900,00	1 282,09	413,83	44,21	14,27	
13		1 800,00	838,08	171,72	46,56	9,54	3)
17	7,51	2 600,00	1 352,00	182,00	52,00	7,00	
20	8,12	2 750,00	1 485,00	146,85	54,00	5,34	
23	8,28	2 940,00	1 652,28	121,13	56,20	4,12	
25	8,34	2 400,00	1 187,76	93,36	49,49	3,89	
28	8,44	2 300,00	1 070,42	72,68	46,54	3,16	
33	8,56	2 300,00	972,44	49,22	42,28	2,14	
35	8,44	1 650,00	636,24	33,99	38,56	2,06	
39.	8,13	1 500,00	333,30	27,15	22,22	1,81	4)
Σ		28 290,00	12 732,09	1976,41			
Výtěžnost [dm ³ /kg sušiny]		1 174,88	522,80				

Poznámky:

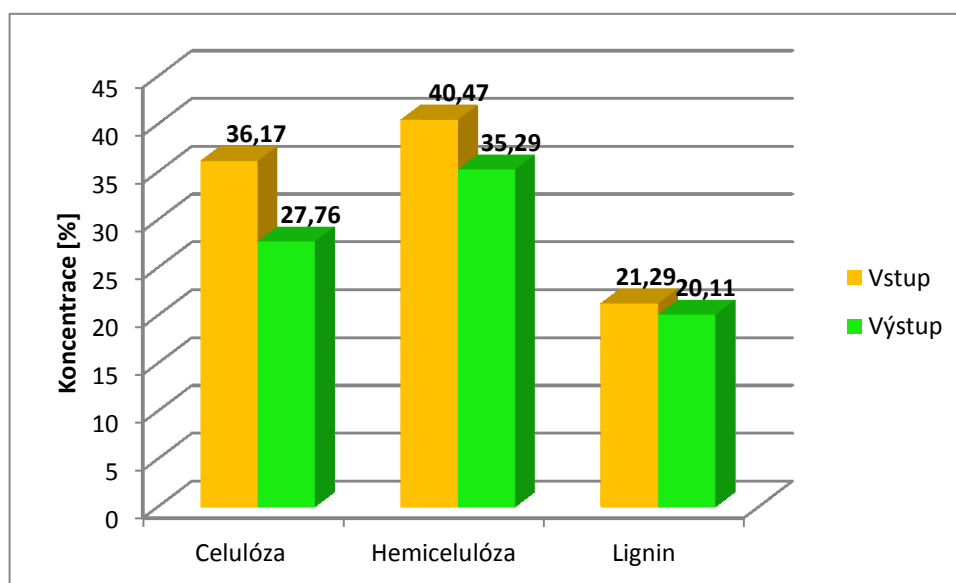
- 1) Start procesu
- 2) Aktivace – přidány anaerobní houby *Anaeromyces mucronatus*
- 3) Snížení teploty na 37 °C
- 4) Ukončení experimentu



Obrázek č. 6.15: Průběh produkce bioplynu v závislosti na čase . experiment č. 3

Tabulka č. 6.8: Analýza vstupního substrátu a výstupu z technologie – experiment č.3

Sledovaný parametr	Jednotka	Vstup	Výstup	Rozdíl	Rozdíl (%)
pH		8,03	8,64	–	–
Vodivost	mS/cm	15,86	21,40	–	–
RL 105 °C	g/l	73,20	61,71	–	–
RL 550 °C	g/l	53,51	28,30	25,21	47,11
NL	g/l	60,47	40,20	–	–
CHSK _{Cr}	g/l	187,50	79,60	107,90	57,55
TOC	mg/l	3 582,00	2 295,00	1287,00	35,93
N _{celk}	mg/l	1 964,00	2 118,00	–	–
NH ₄	mg/l	1 885,63	1 525,13	–	–
N-NH ₄	mg/l	1 414,22	1 143,85	–	–
N-NH ₄	% N _{celk}	72,01	54,01	–	–
P _{celk}	mg/l	327,25		–	–
Celulóza	%	36,17	27,76	6,74	26,34
Hemicelulóza	%	40,47	35,29	13,73	28,37
Lignin	%	21,29	20,11	1,91	8,06
Poměr C/N		1,82	1,08	–	–



Obrázek č. 6.16: Obsah majoritních komponent na vstupu a výstupu experimentu č. 3

6.3.4 Experiment č. 4

V rámci experimentu č. 4 bylo do fermentoru DCU 300 nadávkováno 4 500 ml vzorku z BPS Klokočov (obrázek č. 6.17). Pátý den experimentu bylo přidáno 600 ml živného média s anaerobními houbami *Anaeromyces mucronatus* KF8.



Obrázek č. 6.17: Fermentor DCU 300 se vzorkem BPS Klokočov před přidáním anaerobních hub

Na řídicí jednotce byla nastavena teplota 39 °C. pH prostředí bylo snímáno kontinuálně a zobrazováno na řídicí jednotce. Vizualní kontrola průběhu procesu byla prováděna jednou denně v pracovní dny. Po celou dobu experimentu nedošlo k vzniku bioplynu.

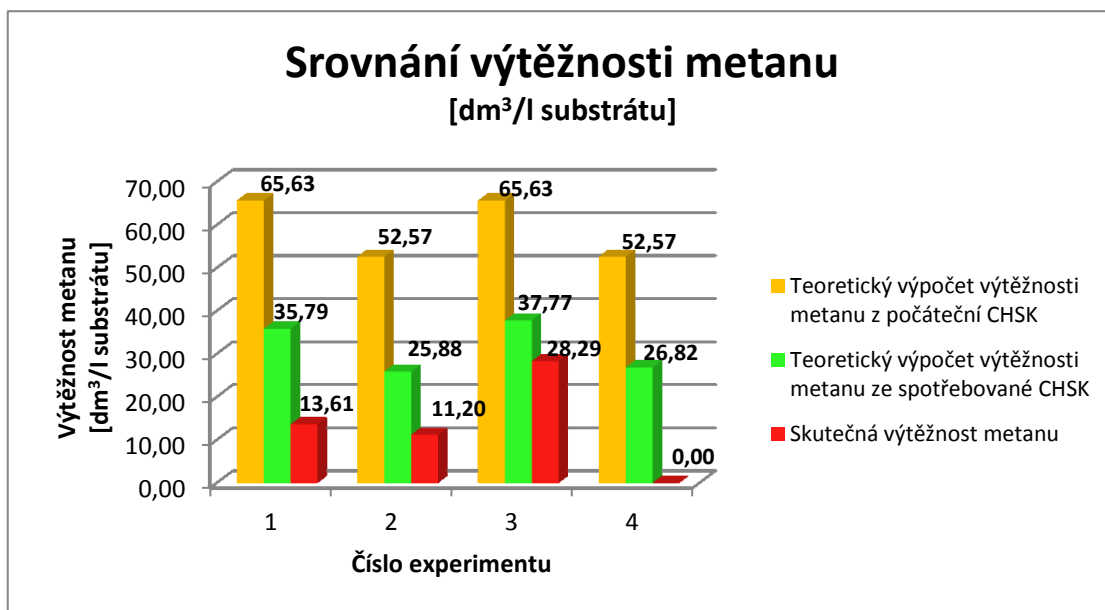
Při vizuálních kontrolách procesu jsem pozorovala tvorbu plovoucí krusty na hladině. Když se proces tvorby bioplynu ani po třinácti dnech experimentu nenastartoval, usoudila jsem, že jednou z příčin může být právě zmíněná křusta, která vznikla nedostatečným promícháváním. V tomto fermentoru bylo ponořeno jen jedno míchadlo a druhé bylo nad hladinou. Proto jsem se rozhodla přidat 1 000 ml

demineralizované vody, aby došlo k ponoření druhého míchadla a tím k důkladnějšímu promíchávání a rozbití krusty.

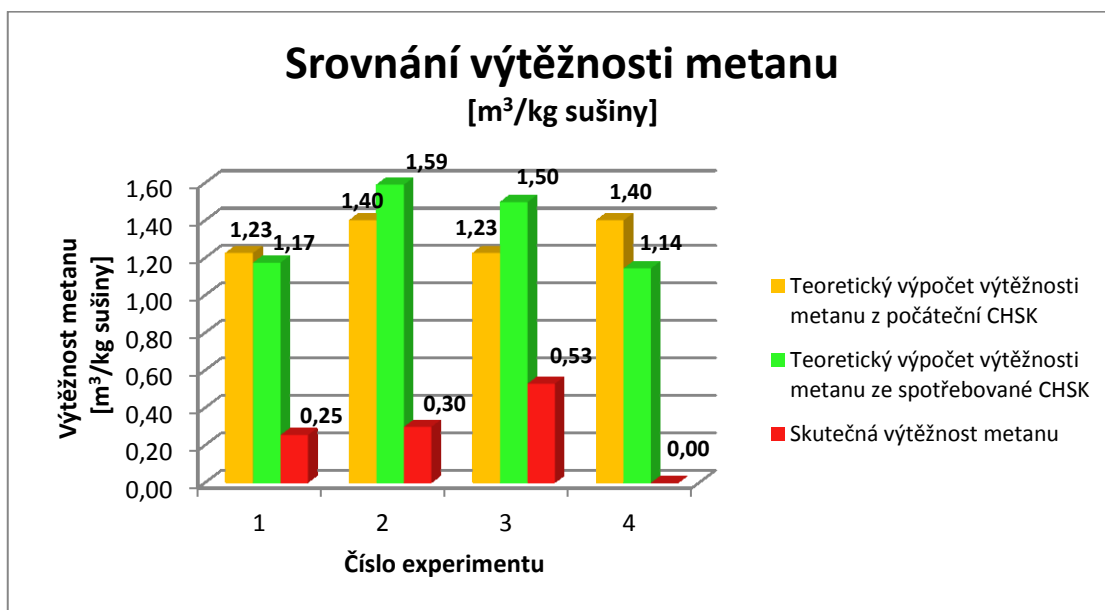
Protože stále nedošlo k nastartování procesu, rozhodla jsem se 25. den experimentu rovněž snížit teplotu na 37 °C jako u experimentu č. 3, kde pokles teploty měl kladný vliv na proces tvorby bioplynu. Ani po tomto zásahu experiment nebyl nastartován. Experiment byl ukončen po 39 dnech.

6.4 Vyhodnocení

Na základě vstupních a výstupních analýz substrátu jsem spočítala teoretickou výtěžnost metanu z počáteční CHSK, teoretickou výtěžnost metanu dle spotřebované CHSK a porovnávala tyto hodnoty se skutečnou výtěžností metanu. Graf č. 1 (obrázek č. 6.18) ukazuje srovnání těchto výtěžností metanu v dm^3/l substrátu, zatímco graf č. 2 (obrázek č. 6.19) vyobrazuje toto srovnání v m^3/kg sušiny.



Obrázek č. 6.18: Srovnání výtěžnosti metanu [dm^3/l substrátu]



Obrázek č. 6.19: Srovnání výtěžnosti metanu [m^3/kg sušiny]

Z porovnání výtěžností metanu vyplývá, že skutečná výtěžnost metanu je výrazně menší než vypočítané teoretické výtěžnosti.

Domnívám se, že hlavním důvodem je vysoká hodnota pH substrátu. Srovnání pH na vstupu a výstupu je uvedeno v následující tabulce č. 6.9.

Tabulka č. 6.9: Srovnání hodnot pH na vstupu a výstupu

Číslo experimentu	Původ substrátu	Vstupní pH	Výstupní pH
1	V. Albrechtice	6,80	8,53
2	Klokočov	7,95	8,55
3	V. Albrechtice	6,80	8,63
4	Klokočov	8,01	8,26

Dle C. G. Orpina [179] a M. Rezaeiana et al. [180] jsou anaerobní houby aktivní při pH od 6 do 7, ale mimo toto rozhraní se jejich počet rapidně snižuje. Z tabulky je patrné, že substráty z BPS Velké Albrechtice měly pH na horní hranici pH, při které jsou houby aktivní a v průběhu experimentu ještě výrazně vzrostly. Substráty z BPS Klokočov byly již od počátku nad vyhovující oblastí pH. Při experimentech se pravděpodobně negativně projevilo použití již „předtráveného“ substrátu, což mohlo způsobit eliminaci acetogenní fáze, kdy dochází ke snížení pH. V alkalickém prostředí je část amonných iontů také převedena na NH_3 [181], který způsobuje inhibici metanizačních bakterií.

7. Závěr

Diplomová práce byla na základě poptávky firem Gascontrol společnost s.r.o. a Fermgas, a.s. zaměřena na intenzifikaci tvorby bioplynu na základě optimálních vlastností substrátů. Pro předúpravu substrátu jsem zvolila biotechnologickou metodu využívající enzymy anaerobní houby *Anaeromyces mucronatus*.

Jako vstupní surovinu pro vlastní experimenty jsem použila substráty odebrané během kontinuálního provozu bioplynových stanic ve Velkých Albrechticích a Klokočově. V těchto fermentorech byl proces anaerobní digesce již nastartován, tak je možné, že v laboratorních bioreaktorech proběhl anaerobní rozklad jen částečně – některé fáze rozkladu byly eliminovány, což způsobilo nízkou výtěžnost metanu. Na nízké výtěžnosti metanu se mohou podílet tyto faktory:

- Vysoké pH

Substráty odebrané z BPS měly již na začátku procesu vysoké pH, které se ještě v průběhu zvyšovalo, čímž došlo pravděpodobně k inhibici jak metanogenních bakterií, tak anaerobních hub [63, 92, 179, 180], a tím i k inhibici procesu tvorby bioplynu. Domnívám se, že k tomuto nárůstu došlo z důvodu vynechání acetogenní fáze, právě použitím „předtráveného“ substrátu.

- Vysoký obsah ligninu

Obsah ligninu nad 15 % [182], resp. 17 % [183] vede k blokaci anaerobní digesce. Pokud zhodnotíme obsah ligninu v odebraných substrátech, 21,29 % z Velkých Albrechtic a 31,88 % z Klokočova, lze očekávat inhibici.

Anaerobní houby měly ovlivnit degradaci ligninu, a tím zlepšit rozkladné procesy. Vzhledem k vysokému pH, které je pro tyto houby nevhodné lze předpokládat, že enzymatické rozkladné procesy neproběhly.

- Vysoká koncentrace N-NH₄

Substráty vykazovaly již na vstupu vysoké hodnoty amonných iontů. Amoniakální dusík (N-NH₄) tvořil až 72,01 % z N_{celk} u substrátu z Velkých Albrechtic a 73,91% z N_{celk} u substrátu z Klokočova, což rovněž mohlo vést k inhibici procesu.

– Kal z Biocelu Paskov

Substrát z BPS Velké Albrechtice obsahuje 23,94 % kalu z Biocelu Paskov a z BPS Klokočov 19,40 % kalu z Biocelu Paskov. Tento kal obsahuje ligninsulfonany, které jsou biologicky velmi těžce rozložitelné a mohou inhibovat celý proces anaerobní digesce.

Na substrátech z BPS Klokočov a Velké Albrechtice se nepodařilo prokázat zvýšenou tvorbu bioplynu po přidavku anaerobních hub. Technologický postup, který jsem zvolila (využití substrátu odebraného z reaktoru BPS) pro ověření intenzifikace tvorby bioplynu pomocí anaerobních hub, se ukázal jako nevhodný.

Přesto si myslím, že by bylo vhodné pokračovat s experimenty. Doporučila bych použití dvoustupňového procesu. Nejdříve hydrolýzu lignocelulózových materiálů pomocí anaerobních hub (pouze pro část vsázky do bioreaktoru – trávy) a následné přivedení takto předupraveného substrátu do fermentoru ke startovacímu médiu.

Použitá literatura

- [1] *CzBA: Česká bioplynová asociace* [online]. 2012 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.czba.cz/>
- [2] Výroba elektrické energie z OZE. In: *CzBA: Česká bioplynová asociace* [online]. 2012 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.czba.cz/aktuality/vyroba-elektricke-energie-z-oze-v-roce-2011.html>
- [3] Výstavba nových bioplynových stanic má zatím podporu. In: *Energie 21* [online]. 2011 [cit. 2012-02-27]. Dostupné z: http://www.energie21.cz/archiv-novinek/Vystavba-novych-bioplynovych-panic-ma-zatim-podporu__s303x55840.html
- [4] KAJAN, Miroslav. Bioplynová stanice Třeboň. In: *EnviWeb* [online]. 2004 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.enviweb.cz/clanek/obecne/48999/bioplynova-panic-trebon>
- [5] Jak fungují bioplynové stanice? Ukázkový příklad zajímavého řešení z Třeboně. In: *E.ON: energie plus* [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://eon.energieplus.cz/ekologicka-energie/bioplyn-1/jak-funguji-bioplynove-panic-ukazkovy-priklad-zajimaveho-reseni-z-trebone>
- [6] KOČ, Břetislav. Největší bioplynová stanice ve střední Evropě. In: *TZB info* [online]. 2008 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.tzb-info.cz/4638-nejvetsi-bioplynova-panic-ve-stredni-evrope>
- [7] Bioenergie: Basisdaten 2011. In: *Biomassverband.at* [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.biomasseverband.at/uploads/tx_osfopage/Basisdatenfolder_2011_OE_BMV.pdf
- [8] A Biogas Road Map for Europe. In: *AEBIOM: European Biomass Association* [online]. 2009 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.big-east.eu/downloads/Brochure_BiogasRoadmap_WEB%5B1%5D.pdf
- [9] Statistik Biogas. In: *Arge: kompost & biogas* [online]. c 2012 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.kompost-biogas.info/index.php?option=com_content&task=view&id=205&Itemid=229
- [10] Biomethan in Österreich. In: *Arge: kompost und biogas* [online]. c2012 [cit. 2012-02-27]. Dostupné z: http://www.kompost-biogas.info/index.php?option=com_content&task=view&id=775&Itemid=461
- [11] Bioenergi störrer än olja. In: *SVEBIO* [online]. 2012 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.svebio.se/bli-medlem>

-
- [12] Biokraft 2011. In: *SVEBIO* [online]. 2012 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://svebio.se/sites/default/files/Biokraftkartan2011_Web_0.pdf
- [13] Bioplyn jako pohonná hmota. In: *Intranet.zas-me.cz* [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://intranet.zas-me.cz/oprv/bioplyn-jako-pohonna-hmota.pdf>
- [14] Aktuella priser. In: *Gasbilen* [online]. c2012 [cit. 2012-03-02]. Dostupné z: <http://www.gasbilen.se/Att-tankad-in-gasbil/Aktuella-priser>
- [15] Werelds eerste trein op biogas. In: *Schoner Transport* [online]. c 2007 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.energiotech.info/schonertransport/biogastrein.htm>
- [16] Entwicklung Biogasanlagen. In: *FNR* [online]. 2011 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://mediathek.fnr.de/grafiken/daten-und-fakten/bioenergie/biogas/entwicklung-biogasanlagen.html>
- [17] Biogasanlagen zur Biomethan-Produktion. In: *FNR* [online]. 2011 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://mediathek.fnr.de/grafiken/daten-und-fakten/bioenergie/biogas/biogasanlagen-zur-biomethan-produktion.html>
- [18] Der BioEnergiepark Güstrow. In: *EnviTec Biogas* [online]. 2009 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.envitec-biogas.de/fileadmin/References/Deutschland/EnviTecBiogasReferenzGüstrow.pdf>
- [19] NAWARO BioEnergie AG - Der BioEnergiepark bei Güstrow. In: *EnviTec Biogas* [online]. c 2012 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.envitec-biogas.de/referenzen/betreiber-und-ihre-anlagen/guestrow-de.html>
- [20] V německém Gersthofen jezdí auta na bioplyn získaný pouze z bioodpadu. In: [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://biopalivafrci.cz/wp-content/uploads/BioplynZBioodpadu.pdf>
- [21] Swissinfo: Autobusy v Bernu budou jezdit na bioplyn. In: *Ekolist.cz* [online]. 2006 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://ekolist.cz/cz/zpravodajstvi/zpravy/swissinfo-autobusy-v-bernu-budou-jezdit-na-bioplyn>
- [22] Biogas-Anteil im Treibstoff individuell wählbar. In: *IBA* [online]. 2012 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.ibaarau.ch/de/aktuelles/meldungen/2012_01_24_Biogasanteil_Treibstoff.php
- [23] Erdgas biogas: Tankstellenverzeichnis Schweiz. In: *Erdgasfahren.ch* [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.erdgasfahren.ch/fileadmin/customer/erdgas-fahren/Data/Tanken/Tankstellenkarte/2404_Bro_TS-Verzeichnis_Inh_d_RZ_low.pdf
-

- [24] VYUŽITÍ BIOPLYNU VE MĚSTĚ BERN. In: *Madagascar: Market development for gas driver cas* [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.madagascar.eu/fileadmin/dam/madagascar/downloads/czech_republic/Bern-final.pdf
- [25] STEFFEN, R., O. SZOLAR a R. BRAUN. Feedstocks for Anaerobic Digestion. In: *The European Anaerobic Digestion Network* [online]. 1998 [cit. 2012-04-19]. Dostupné z: http://www.adnett.org/dl_feedstocks.pdf
- [26] Desatero bioplynových stanic: aneb zásady efektivní výstavby a provozu bioplynových stanic. In: *AGROMONT* [online]. 2007 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.agromont.cz/userfiles/file/dokumenty_5.pdf
- [27] Wie funktioniert eine Biogasanlage?. In: *Deutschlands Informationsportal zu Erneuerbaren Energien* [online]. 2007 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.unendlich-viel-energie.de/de/bioenergie/detailansicht/article/103/wie-funktioniert-eine-biogasanlage.html>
- [28] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1774/2002, o hygienických pravidlech pro vedlejší produkty živočišného původu, které nejsou určeny pro lidskou spotřebu
- [29] Braun, R. (1982): Biogas - Methangärung organischer Abfallstoffe, Grundlagen und Anwendungsbeispiele. Springer Verlag, Wien; New York.
- [30] Wellinger, A. (1991): Biogas-Handbuch, Grundlagen-Planung-Betrieb landwirtschaftlicher Anlagen. (ed.). Verlag Wirz, Aarau, CH
- [31] Moderní využití biomasy: Technologické a logistické možnosti. In: *Ministerstvo průmyslu a obchodu* [online]. 2006 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.mpo-efekt.cz/dokument/02.pdf>
- [32] BioAlgeen. In: *BD Tech* [online]. c2010 [cit. 2012-02-25]. Dostupné z: http://www.bdtech.cz/pripravky_na_kejdu_bio_algeen.html
- [33] Program bioplynových stanic. In: Bioprim s.r.o.: v souladu s přírodou [online]. c2012 [cit. 2012-03-27]. Dostupné z: <http://www.bioprim.cz/bioplynove-stanice.html>
- [34] Treonin. In: *MZCR* [online]. 2008 [cit. 2012-02-25]. Dostupné z: <http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/hypertext/200620/hypertext/BOKPAAG.htm>
- [35] Brachtel, E. (1998): Pilotversuche zur Cofermentation von pharmazeutischen Abfällen mit Rindergülle. Diplomarbeit. Interuniversitäres Forschungsinstitut für Agrarbiotechnologie, Abt. Umweltbiotechnologie, 3430-Tulln, Austria. (in Arbeit)
- [36] Braun, R. (1982): Biogas - Methangärung organischer Abfallstoffe, Grundlagen und Anwendungsbeispiele. Springer Verlag, Wien; New York.

-
- [37] Thomé-Kozmiensky, K.J. (1995): Biologische Abfallbehandlung. (ed.). EFVerlag für Energie- und Umwelttechnik, Berlin, D.
- [38] Wellinger, A. (1984): Anaerobic digestion: A review comparison with two types of aeration systems for manure treatment and energy production on the small farm. *Agricultural wastes* 10: 117-133.
- [39] Kuhn, E. (1995): Kofermentation. (ed.). Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V. (KTBL), Arbeitspapier 219, Darmstadt.
- [40] Nordberg, Å. and Edström, M. (1997): Co-digestion of ley crop silage, sourcesorted municipal solid waste and municipal sewage sludge. Proceedings from 5th FAO/SREN Workshop „Anaerobic Conversion for Environmental Protection, Sanitation and Re-Use of Residues“, 24. - 27. March 1997; Gent, Belgium.
- [41] KOKRHELOVÁ, Květoslava a Tomáš JIROUT. Enzymatická hydrolýza lignocelulózových plodin a odpadů pro výrobu biopaliv. In: *České vysoké učení technické: Fakulta strojní* [online]. c 2007 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.fsid.cvut.cz/cz/u218/stc/Sbornik/S2/Kokrhelova_Kvetoslava_12118.pdf
- [42] STRAKA, František, et al. *BIOPLYN : příručka pro výuku, projekci a provoz bioplynových systémů*. Říčany : GAS s.r.o., 2003. 517 s. ISBN 80-7328-029-9.
- [43] WANG, Y.S., ODLE, W.S., ELEAZER, W.E., AND BARLAZ, M. A. :Methane potential of food waste anaerobic toxicity of leachate produced during food waste decomposition. *Waste Management and Research*, Vol. 15, 1997. pp.149-167.
- [44] TSAO, G. T. Bacterial hydrolysis : A review. In: Ferrero, G.L., Ferranti, M.P., Naveau, M.P. (ed.), *Anaerobic Digestion and Carbohydrate Hydrolysis of Waste*, Elsevier, Applied Science Publishers, London, 1984. pp. 83-99.
- [45] Discovery of Cellulose as a Smart Material Jaehwan Kim and Sungryul Yun *Macromolecules*, 2006, 4202-4206, DOI:10.1021/ma060261e
- [46] DOHÁNYOS, M., ZÁBRANSKÁ, J., PROCHÁZKA, J., 2008: Intenzifikace výroby bioplynu – předpoklady a praktické zkušenosti. In: *Sborník konference – Výstavba provoz bioplynových stanic*, Trebon 9. – 10. října 2008: 83-88
- [47] Barnes, S.P., Keller, J. (2003). Cellulosic waste degradation by rumen-enhanced anaerobic digestion *Water Science and Technology* Vol 48 No 4 pp 155–162.
- [48] ČEPIČKA, Ivan; KOLÁŘ, Filip; SYNEK, Petr. Mutualismus, vzájemně prospěšná symbióza; Přípravný text - biologická olympiáda 2007-2008. Praha : NIDM ČR, 2007. S. 87.
- [49] Voda a krajina. In: *VERONICA: ekologický institut* [online]. 2004 [cit. 2012-02-25]. Dostupné z: http://www.veronica.cz/dokumenty/voda_a_krajina.pdf
-

-
- [50] GILKES, N.R., KILBURN, D.G., MILLER, R.C., WARREN, R.A.J. : Bacterial Cellulases. *Bioresource Technology*, Vol.36, 1991. pp. 21-35.
- [51] LINDEN, J.C., SHIANG, M. :Bacterial Cellulases: regulation of synthesis. In: G.F. Leatham and M.E. Himmel (ed.), *Enzymes in Biomass Conversion*, ACS Symposium Series 460, American Chemical Society, Washington, DC, 1991. pp. 331-348 .
- [52] Štindl P.,: Pisemna práce k statni doktorske zkoušce DPS, Jihočeska univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělska fakulta, : 2008. pp. 1-20
- [53] André Breton, Annick Bernalier, Martine Dusser, Gérard Fonty, Brigitte Gaillard-Martinie, Jean Guillot, *Anaeromyces mucronatus* nov. gen., nov. sp. A new strictly anaerobic rumen fungus with polycentric thallus, *FEMS Microbiology Letters*, Volume 70, Issue 2, July 1990, Pages 177-182, ISSN 0378-1097, 10.1016/S0378-1097(05)80035-7.
- [54] *Význam vlastností fytoenergetických travin využitelných pro anaerobní digesce*. Ostrava, 2007. Disertační práce. VŠB-TUO. Vedoucí práce Dagmar Juchelková.
- [55] KIRK, T.K., FARRELL, R.L. :Enzymatic „combustion“ : the microbial degradation of lignin. *Annu. Rev. Microbiology*, Vol. 41, 1987. pp. 465 – 505.
- [56] Enzymatická hydrolýza lignocelulózových plodin a odpadů pro výrobu biopaliv. In: *ČVUT* [online]. 2008 [cit. 2012-04-27]. Dostupné z: http://stc.fs.cvut.cz/History/2008/Sbornik/S2/Kokrhelova_Kvetoslava_12118.pdf
- [57] CRAWFORD, D.L. :The role of actinomycetes in the decomposition of lignocellulose. *FEMS Symp.* 34, 1986. pp. 715 – 728.
- [58] VAN SOEST, P.J. :The Nutritional Ecology of the Ruminant, 2nd edition, Cornell University Press Ithaco, NY, 1996. pp. 476.
- [59] Handreichung: Biogasgewinnung und -nutzung. Gülzow: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V., 2006. ISBN 3-00-014333-5. Dostupné z: http://www.fnr-server.de/ftp/pdf/literatur/HR_Biogas.pdf
- [60] Weiland, P.: Grundlagen der Methangärung – Biologie und Substrate; VDI-Berichte, Nr. 1620 „Biogas als regenerative Energie – Stand und Perspektiven“; S. 19-32; VDI-Verlag 2001
- [61] GARDAVSKÁ, Anna. *Matematické modelování biodegradačních procesů*. Brno, 2010. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/270249/prif_b/finalll.pdf. Bakalářská práce. Masarykova univerzita.
- [62] Kroiss, H.: Anaerobe Abwasserreinigung; Wiener Mitteilungen Bd. 62; Technische Universität Wien, 1985
-

-
- [63] KAJAN, Miroslav a Richard LHOTSKÝ. Možnosti zvýšení výroby bioplynu na stávajících zařízeních. In: *Ministerstvo průmyslu a obchodu: EFEKT energie efektivně* [online]. 2006 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.mpo-efekt.cz/dokument/30.pdf>
- [64] HAMILTON, Douglas W. Anaerobic Digestion of Animal Manures: Understanding the Basic Processes of. In: *Division of Agricultural Sciences and Natural Resources* [online]. c 2012 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-6278/BAE-1747web.pdf>
- [65] Braun, R.: Biogas – Methangärung organischer Abfallstoffe; Springer Verlag Wien, New York, 1982
- [66] SCHULZ, Heinz a Barbara EDER. *Bioplyn v praxi*. 1. české vydání. Ostrava: HEL, 2004. ISBN 80-86167-21-6.
- [67] Kaltschmitt, M.; Hartmann, H.: Energie aus Biomasse –Grundlagen, Techniken und Verfahren; Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 2001
- [68] KAMARÁD, Luděk, Petra DUNDÁLKOVÁ, Petr MARADA a Jan MAREČEK. Návrh mikrobiální sanace v technologiích bioplynových stanic: - provozní aplikace mikrobiotechnologických prostředků ve vybraných bioplynových provozech. In: *EAGRI* [online]. vydání 2. Brno, 2008 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/32334/Etapa_II_NVRH_MIKROBILN_SANACE_FV.pdf
- [69] Anaerobic digestion. In: *Eac-quality.net* [online]. c 2009 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.eac-quality.net/fileadmin/eac_quality/user_documents/3_pdf/Anaerobic_digestion-02.pdf
- [70] MATOUŠKOVÁ, Petra. *Produkce a charakterizace extracelulárních hydroláz z vybraných druhů plísňí*. Brno, 2011. Dostupné z: http://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=37064. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně.
- [71] Aerobic and Anaerobic Biodegradation. In: *ENSO Bottles, LLC: in partnership with Resilux America* [online]. c 2009 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.ensobottles.com/pdf/Aerobic%20Anaerobic%20Biodegradation_2009_0430.pdf
- [72] Cairó, J.J. and París, J.M. (1988). Microbiología de la digestión anaerobia, metanogénesis. 4o Seminario de Depuración Anaerobia de Aguas Residuales. Valladolid. F.F. Polanco, P.A. García y S. Hernando. (Eds.) pp. 41-51.
-

-
- [73] Dinopolou, G., Rudd, T. and Lester, J.N. (1987). Anaerobic acidogenesis of a complex wastewater: I. The influence of operational parameters on reactor performance. *Biotech. And Bioeng.* 31: 958 – 968.
- [74] Laroche, M. (1983). *Metabolisme intermediaire des acides gras volatils en fermentation methanique. These de Docteur – Ingenieur en Sciences Alimentaires_Fermentations.* Institut National de la Recherche Agronomique, France.
- [75] ŽÍDEK, Michal. Anaerobní digesce zvolených substrátů na laboratorním fermentoru. In: *Energie z biomasy III*. Brno, 2004. Dostupné z: http://oei.fme.vutbr.cz/konfer/biomasa_iii/papers/08-Zidek.pdf
- [76] THAUER, Rudolf K. Biochemistry of methanogenesis: a tribute to Marjory Stephenson. In: *Mikrobiology* (1998), 144, 2377-2406 [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://mic.sgmjournals.org/content/144/9/2377.full.pdf+html>
- [77] ČEJKOVÁ, Alena. Biotechnologické aplikace mikroorganismů. In: *VŠCHT* [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/kch/download/sylaby/bam-mag.pdf>
- [78] STRABAG: *Umweltanlagen* [online]. c 2011 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: [http://www.strabag-umweltanlagen.com/databases/internet/_public/files.nsf/SearchView/5ED5921668587237C125753F00349AD9/\\$File/verfahren_Trockenvergärung_e_v04.pdf](http://www.strabag-umweltanlagen.com/databases/internet/_public/files.nsf/SearchView/5ED5921668587237C125753F00349AD9/$File/verfahren_Trockenvergärung_e_v04.pdf)
- [79] Systém suché bio fermentace. In: *Bioplyn-info.sk: Moderní zpracování odpadů...* [online]. c 2012 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.bioplyn-info.sk/system-suche-bio-fermentace/>
- [80] Bioplynové stanice: suchá anaerobní fermentace. In: *Fortex* [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.fortexbioplyn.cz/cz/bioplynove-stanice-sucha-fermentace>
- [81] MRŮZEK, Martin. Energetické využití biomasy. In: *Spolek poradců v ekologickém zemědělství ČR* [online]. 2011 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.eposcr.eu/wp-content/uploads/2011/04/ML27-Energeticke-vyuziti-biomasy.pdf>
- [82] Anaerobní technologie. In: *Bioprofit* [online]. c2007 [cit. 2012-01-15]. Dostupné z: http://www.bioplyn.cz/at_popis.htm
- [83] POSPÍŠIL, Lukáš a Břetislav KRŇÁVEK. Suchá fermentace: alternativní výroba bioplynu. In: *Fortex AGS* [online]. 2010 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.fortexbioplyn.cz/uploaded/trebon_1_2010.pdf
- [84] Dry Digestion. In: *F.L.I. ENERGY: ANAEROBIC DIGESTION TECHNOLOGY* [online]. c 2011 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.fli.ie/flienergy/dry_digestion/index.html
-

-
- [85] KARAFIÁT, Zbyšek, VÍTEŽ, Tomáš, POSPÍŠIL, Lukáš: Bioplynové stanice na „suchou“ fermentaci – šance pro energetické využití biologicky rozložitelných odpadů (BRO). Biom.cz [online]. 2009-08-31 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/bioplynove-stanice-na-suchou-fermentaci-sance-pro-energeticke-vyuziti-biologicky-rozlozitelnych-odpadu-bro>>. ISSN: 1801-2655.
- [86] Výstavba bioplynových stanic. In: *Bioplyn cs* [online]. c 2009 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.bioplyn.cs.cz/vystavba_bioplynovych_stanic
- [87] KAJAN, Miroslav: Bioplyn z odpadů živočišné výroby. Biom.cz [online]. 2005-08-23 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/bioplyn-z-odpadu-zivocisne-vyroby>>. ISSN: 1801-2655.
- [88] RUTZ, Dominik. Information about Biogas: Biogas - The Perfect Energy Source. In: *Biogas for Eastern Europe* [online]. c 2007 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.big-east.eu/info_biogas/info_biogas.html
- [89] *Biomethanation*. Berlin: Springer, 2003. ISBN 35-404-4321-5.
- [90] PFOST, Donald L, Charles D. FULHAGE a David RASTORFER. Anaerobic Lagoons for Storage: Treatment of Livestock Manure. 2007. Dostupné z: <http://extension.missouri.edu/publications/DisplayPub.aspx?P=EQ387>
- [91] DOHÁNYOS, Michal. Teoretické základy anaerobní fermentace. In: *Biomasa-info.cz* [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.biomasa-info.cz/cs/doc/bioplyn.pdf>
- [92] KOUŘA, Jaroslav. *Bioplynové stanice s mokřým procesem*. 1. vyd. Praha: Pro Českou komoru autorizovaných inženýrů a techniků činných ve výstavbě (ČKAIT) vydalo Informační centrum ČKAIT, 2008, 119 s. ISBN 978-80-87093-33-7 (INFORMAČNÍ CENTRUM ČKAIT : BROŽ.
- [93] Maurer, M.; Winkler, J-P., Biogas – Theoretische Grundlagen, Bau und Betrieb von Anlagen, Verlag C.F.Müller, Karlsruhe, 1980
- [94] Wellinger, A.; Baserga, U.; Edelman, W.; Egger, K.; Seiler, B., Biogas-Handbuch, Grundlagen – Planung – Betrieb landwirtschaftlicher Anlagen, Verlag Wirz – Aarau, 1991
- [95] ŠTAMBASKÝ, Jan a Matthias GERHARDT. Intenzifikace produkce bioplynu aplikací enzymů a stopových prvků. In: *DSM* [online]. 2009 [cit. 2012-01-15]. Dostupné z: <http://www.novaenergo.cz/get.php?id=85>
- [96] Jelínek a kolektiv, Hospodaření a manipulace s odpady ze zemědělství a venkovských sídel, Agrospoj, Praha, 2001
-

-
- [97] Biogasanlagen zur Vergärung nachwachsender Rohstoffe; Tagungsband; Barnstorfer Biogastagung 2000; Ländliche Erwachsenenbildung Niedersachsen (LEB)
- [98] FRÜHBAUER, Zdeněk. *Výroba bioplynu jako automobilového paliva z obnovitelných zdrojů energie*. Brno, 2010. Dostupné z: http://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=28407. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně.
- [99] Helms, P.: Biologische Entschwefelung, Erneuerbare Energien in der Landwirtschaft 2002/2003; Band 5, 1. Auflage Dezember 2002, Verlag für landwirtschaftliche Publikationen, Zeven
- [100] Technologie bioplynových stanic. In: *Enviton* [online]. c 2008 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.bioplynovestanice.cz/technologie-bps/>
- [101] VÁŇA, Jaroslav: Bioplynové stanice na využití bioodpadů. Biom.cz [online]. 2010-05-10 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/bioplynove-stanice-na-vyuziti-bioodpadu>>. ISSN: 1801-2655.
- [102] STUPAVSKÝ, Vladimír: Mikrokogenerace a trigenerace. Biom.cz [online]. 2010-08-09 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z WWW: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/mikrokogenerace-a-trigenerace?all_ids=1>. ISSN: 1801-2655.
- [103] Anaerobic digestion. In: *Eac-quality* [online]. 2009 [cit. 2012-01-15]. Dostupné z: http://www.eac-quality.net/fileadmin/eac_quality/user_documents/3_pdf/Anaerobic_digestion-02.pdf
- [104] Biogas flows through Germany's grid 'big time' (<http://www.renewableenergyworld.com/rea/news/article/2008/07/biogas-flows-through-germanys-grid-big-time-53075>), renewableenergyworld.com
- [105] Energy Dictionary. In: *EnergyVortex* [online]. [cit. 2012-01-15]. Dostupné z: http://www.energyvortex.com/energydictionary/energy_loss_transmission_loss.html
- [106] Pohon motorového vozidla na bioplyn. In: *ŠLÁPNI NA PLYN* [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://lpg-cng.ochranamotoru.cz/doprava-slapni-na-plyn-auto-autobus-bioplyn.htm>
- [107] JUCHELKOVÁ, Dagmar a Helena RACLAVSKÁ. *Energetické využití biomasy*. VŠB-TUO: Ostrava, 2009. Dostupné z: http://www1.vsb.cz/ke/vyuka/FRVS/CD_Biomasa_nove/Pdf/Bioplyn.pdf
- [108] Steve Dagnall, UK strategy for centralised anaerobic digestion, Bioresource Technology, Volume 52, Issue 3, 1995, Pages 275-280, ISSN 0960-8524, 10.1016/0960-8524(95)00039-H. Dostupný z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/096085249500039H>
-

-
- [109] MARSHALL, Alex. Oaktech Environmental. In: *Alexmarshall* [online]. 2006 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: http://www.alexmarshall.me.uk/index_files/documents/ResponsetoConsultationonthesourcesegregationrequirementinParagraph7AofSchedule3totheWasteMan.pdf
- [110] VÁŇA, Jaroslav: Využití digestátů jako organického hnojiva. Biom.cz [online]. 2007-04-25 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/vyuziti-digestatu-jako-organickeho-hnojiva>>. ISSN: 1801-2655.
- [111] ČR. Zákon č. 156/1998 Sb. o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd, ve znění zákona č. 308/2000 Sb.
- [112] KOLÁŘ, Ladislav: Agrochemická hodnota organické hmoty odpadů z fermentorů při výrobě bioplynu. Biom.cz [online]. 2009-05-06 [cit. 2012-04-27]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/agrochemicka-hodnota-organicke-hmoty-odpadu-z-fermentoru-pri-vybere-bioplynu>>. ISSN: 1801-2655.
- [113] KRÁTKÝ, Lukáš. Zařízení pro předúpravu surovin při výrobě biopaliv. In: *České vysoké učení technické* [online]. 2010 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://chps.fsid.cvut.cz/pt2010/pdf/KratkyLukas.pdf>
- [114] DOHÁNYOS, Michal: Zvyšování efektivity fermentace - nejnovější poznatky ve výzkumu a praxi. Biom.cz [online]. 2009-02-25 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/zvysovani-efektivita-fermentace-nejnovejsi-poznatky-ve-vyzkumu-a-praxi>>. ISSN: 1801-2655.
- [115] Baier U., Schmidheiny P. (1997) Enhanced anaerobic degradation of mechanically digested biosolids. *Wat. Sci. Tech.* 36, No 11, 137-146.
- [116] Dohányos M., Zábranská J., Jeníček P. (1997) Enhancement of sludge anaerobic digestion by use of a special thickening centrifuge. *Water Sci. Technol.*, 36, 11, 145-153.
- [117] Mukherjee, S.R. and Levine, A.D. (1992). Chemical solubilization of particulate organics as a pretreatment approach. *Wat.Sci.Tech.* 26 (9/11), 2289-2292.
- [118] González-Fernández, C. et al., (2008), Different pretreatments for increasing the anaerobic biodegradability in swine manure. *Bioresour. Technol.* doi:10.1016/j.biortech. 2008.04.020.
- [119] Martín, C., Helene B. Klinké, H.B., Thomsen, A.B. (2007) Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse *Enzyme and Microbial Technology* 40 426–432.
- [120] Dohányos M., Zábranská J., Jeníček P., Štěpová J., Kutil V., Horejš J. (2000) The intensification of sludge digestion by the disintegration of activated sludge and the thermal conditioning of digested sludge. *Water Sci. Technol.*, 42, 9, 57-64.
-

-
- [121] Gerhardt, M., Pelenc, V., Bäuml, M. (2007). Application of hydrolytic enzymes in the agricultural biogas production: Results from practical applications in Germany. *Biotechnology Journal*, 2., 1481-1484.
- [122] Zhang, Y.H.P., Lyn, L.R. (2004). Toward an Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Noncomplexed Cellulase Systems *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 88, No. 7, 797-824.
- [123] Gijzen, H. J., Zwart, K. B., Teunissen, M. J., Vogels, G. D. (1988) Anaerobic Digestion of Cellulose Fraction of Domestic Refuse by Means of Rumen Microorganisms. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 32, Pp. 749-755.
- [124] Hodrová, B., Kopečný, J., Káš, J. (1998). Cellulolytic enzymes of rumen anaerobic fungi *Orpinomyces joyonii* and *Caecomyces communis*., *Res. Microbiol.* 149, 417-427.
- [125] ZÁBRANSKÁ, Jana: Intenzifikace výroby bioplynu z rostlinných materiálů. *Biom.cz* [online]. 2010-10-18 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/intenzifikace-vyroby-bioplynu-z-rostlinnych-materialu>>. ISSN: 1801-2655.
- [126] DOI, Roy H. Cellulases of Mesophilic Microorganisms. *Annals of the New York Academy of Sciences : Incredible Anaerobes From Physiology to Genomics to Fuels* [online]. March 2008, Volume 1125, [cit. 2011-11-12]. Dostupný z WWW: <<http://dx.doi.org/10.1196/annals.1419.002>>.
- [127] Beukes, N. & B.I. Pletschke. 2006. Effect of sulfur-containing compounds on *Bacillus* cellulosome-associated 'CMCase' and 'Avicelase' activities. *FEMS Microbiol. Lett.* 264: 226–231.
- [128] Kotchoni, O.S., O.O. Shonukan & W.E. Gachomo. 2003. *Bacillus pumilus* BpCRI6, a promising candidate for cellulase production under conditions of catabolite repression. *Afr. J. Biotechnol.* 2: 140–146.
- [129] Langsford, M.L., N.R. Gilkes, W.W. Wakarchuk, et al. 1984. The cellulase system of *Cellulomonas fimi*. *J. Gen. Microbiol.* 130: 1367–1376.
- [130] Pérez-Avalos, O., T. Ponce-Noyola, I. Magaña-Plaza & M. De La Torre. 2004. Induction of xylanase and beta-xylosidase in *Cellulomonas flavigena* growing on different carbon sources. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 46: 405–409.
- [131] Stackebrandt, E. & O. Kandler. 1979. Taxonomy of the genus *Cellulomonas*, based on phenotypic characters and deoxyribonucleic acid-deoxyribonucleic acid homology, and proposal of seven neotype strains. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 29: 273–282.
- [132] Blackall, L.L., A.C. Hayward & L.I. Sly. 1985. Cellulolytic and dextranolytic gram-negative bacteria: revival of the genus *Cellvibrio*. *J. Appl. Bacteriol.* 59: 81–97.
-

- [133] Hazlewood, G.P., J.I. Laurie, L.M. Ferreira & H.J. Gilbert. 1992. *Pseudomonas fluorescens* subsp. *cellulosa*: an alternative model for bacterial cellulase. *J. Appl. Bacteriol.* 72: 244–251.
- [134] Enger, M.D. & B.P. Sleeper. 1965. Multiple cellulase system from *Streptomyces antibioticus*. *J. Bacteriol.* 89: 23–27.
- [135] Li, X.-Z. 1997. *Streptomyces cellulolyticus* sp. nov., a new cellulolytic member of the genus *Streptomyces*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 443–445.
- [136] Kluepfel, D., F. Shareck, F. Mondou & R. Morosoli. 1986. Characterization of cellulase and xylanase activities of *Streptomyces lividans*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24: 230–234.
- [137] Schlochtermeyer, A., S. Walter, J. Schroder, et al. 1992. The gene encoding the cellulase (Avicelase) Cel1 from *Streptomyces reticuli* and analysis of the protein domains. *Mol. Microbiol.* 6: 3611–3621.
- [138] Elberson, M.A., F. Malekzadeh, M.T. Yazdi, et al. 2000. *Cellulomonas persica* sp. nov. and *Cellulomonas iranensis* sp. nov., mesophilic cellulose-degrading bacteria isolated from forest soils. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50: 993–996.
- [139] Stoppok, W., P. Rapp & F. Wagner. 1982. Formation, location, and regulation of endo-1,4- β -glucanases and β -glucosidases from *Cellulomonas uda*. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 44–53.
- [140] Storwick, W.O. & K.W. King. 1960. The complexity and mode of action of the cellulase system of *Cellvibrio gilvus*. *J. Biol. Chem.* 235: 303–307.
- [141] Patel, G. B., A.W. Khan, B.J. Agnew & J.R. Colvin. 1980. Isolation and characterization of an anaerobic, cellulolytic microorganism, *Acetivibrio cellulolyticus* gen. nov., sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 30: 179–185.
- [142] Ding, S.-Y., E.A. Bayer, D. Steiner, et al. 1999. A novel cellulosomal scaffoldin from *Acetivibrio cellulolyticus* that contains a family 9 glycosyl hydrolase. *J. Bacteriol.* 181: 6720–6729.
- [143] Ding, S.-Y., E.A. Bayer, D. Steiner, et al. 2000. A scaffoldin of the *Bacteroides cellulosolvens* cellulosome that contains 11 Type II cohesins. *J. Bacteriol.* 182: 4915–4925.
- [144] Forsberg, C.W., T.J. Beveridge & A. Hellstrom. 1981. Cellulase and xylanase release from *Bacteriodes succinogenes* and its importance in the rumen environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 886–896.
- [145] Ohara, H., S. Karita, T. Kimura, et al. 2000. Characterization of the cellulolytic complex (cellulosome) from *Ruminococcus albus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64: 254–260.

- [146] Aurilia, V., J.C. Martin, S.I. McCrae, et al. 2000. Three multidomain esterases from the cellulolytic rumen anaerobe *Ruminococcus flavefaciens* 17 that carry divergent dockerin sequences. *Microbiology* 146: 1391–1397.
- [147] Lin, L.-L. & J.A. Thomson. 1991. An analysis of the extracellular xylanases and cellulases of *Butyrivibrio fibrisolvens* H17c. *FEMS Microbiol. Lett.* 84: 197–204.
- [148] Sabathe, F., A. Belaich & P. Soucaille. 2002. Characterization of the cellulolytic complex (cellulosome) of *Clostridium acetobutylicum*. *FEMS Microbiol. Lett.* 217: 15–22.
- [149] Hungate, R.E. 1944. Studies on cellulose fermentation. I. The culture and physiology of an anaerobic cellulose-digesting bacterium. *J. Bacteriol.* 48: 499–513.
- [150] Monserrate, E., S.B. Leschine & E. Canale-Parola. 2001. *Clostridium hungatei* sp. nov., a mesophilic, N₂-fixing cellulolytic bacterium isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 123–132.
- [151] He, Y.L., Y.F. Ding & Y.Q. Long. 1991. Two cellulolytic *Clostridium* species: *Clostridium cellulosi* sp. nov. and *Clostridium cellulofermentans* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41: 306–309.
- [152] Gal, L., S. Pages, C. Gaudin, et al. 1997. Characterization of the cellulolytic complex (cellulosome) produced by *Clostridium cellulolyticum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 903–909.
- [153] Doi, R.H. & Y. Tamaru. 2001. The *Clostridium cellulovorans* cellulosome: an enzyme complex with plant cell wall degrading activity. *Chem. Rec.* 1: 24–32.
- [154] Varel, V.H., R.S. Tanner & C.R. Woese. 1995. *Clostridium herbivorans* sp. nov., a cellulolytic anaerobe from the pig intestine. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45: 490–494.
- [155] Kakiuchi, M., A. Isui, K. Suzuki, et al. 1998. Cloning and DNA sequencing of the genes encoding *Clostridium josui* scaffolding protein CipA and cellulase CelD and identification of their gene products as major components of the cellulosome. *J. Bacteriol.* 180: 4303–4308.
- [156] Pohlschroder, M., S.B. Leschine & E. Canale-Parola. 1994. Multicomplex cellulase-xylanase system of *Clostridium papyrosolvens* C7. *J. Bacteriol.* 176: 70–76.
- [157] Kuhls, K., E. Lieckfeldt, G. J. SamuelsDagger, et al. 1996. Molecular evidence that the asexual industrial fungus *Trichoderma reesei* is a clonal derivative of the ascomycete *Hypocrea jecorina*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 7755–7760.
- [158] Gielkens, M.M.C., E. Dekkers, J. Visser & L.H. De Graaff. 1999. Two cellobiohydrolase-encoding genes from *Aspergillus niger* require D-xylose and the xylanolytic transcriptional activator XlnR for their expression. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4340–4345.

-
- [159] Covert, S.F., J. Bolduc & D. Cullen. 1992. Genomic organization of a cellulase gene family in *Phanerochaete chrysosporium*. *Curr. Genet.* 22: 407–413.
- [160] Valaskova, V. & P. Baldrian. 2006. Degradation of cellulose and hemicelluloses by the brown rot fungus *Piptoporus betulinus*—production of extracellular enzymes and characterization of the major cellulases. *Microbiology* 152: 3613–3622.
- [161] Sigoillot, C., A. Lomascolo, E. Record, et al. 2002. Lignocellulolytic and hemicellulolytic system of *Pycnoporus cinnabarinus*: isolation and characterization of a cellobiose dehydrogenase and a new xylanase. *Enzyme Microb. Technol.* 31: 876–883.
- [162] Pothiraj, C., P. Balaji & M. Eyini. 2006. Enhanced production of cellulases by various fungal cultures in solid state fermentation of cassava waste. *Afr. J. Biotechnol.* 5: 1882–1885.
- [163] Hastrup, A.C.S., B. Jensen, C. Clausen & F. Green III. 2006. The effect of CaCl₂ on growth rate, wood decay and oxalic acid accumulation in *Serpula lacrymans* and related brown-rot fungi. *Holzforshung* 60: 339–345.
- [164] Eriksson, K.E. & B. Pettersson. 1975. Extracellular enzyme system utilized by the fungus *Sporotrichum pulverulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. 1. Separation, purification and physico-chemical characterization of five endo-1,4-beta-glucanases. *Eur. J. Biochem.* 51: 193–206.
- [165] NAGPAL, Ravinder. Ruminant anaerobic fungi: The potential plant-fiber degraders in the rumen. In: *Dostoc.cz: Documents & Resources for Small Businesses & Professionals* [online]. [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.docstoc.com/docs/32075784/Ruminal-anaerobic-fungi-The-pote>
- [166] Fillingham, I., P. Kroon, G. Williamson & G. Hazlewood. 1999. A modular cinnamoyl ester hydrolase from the anaerobic fungus *Piromyces equi* acts synergistically with xylanase and is part of a multiprotein cellulose-binding cellulase-hemicellulase complex. *Biochem. J.* 343: 215–224.
- [167] Eberhardt, R.Y., H.J. Gilbert & G.P. Hazlewood. 2000. Primary sequence and enzymic properties of two modular endoglucanases, Cel5A and Cel45A, from the anaerobic fungus *Piromyces equi*. *Microbiology* 146: 1999–2008.
- [168] LEE, SS; HA, JK; CHENG, KJ. The effects of sequential inoculation of mixed rumen protozoa on the degradation of orchard grass cell walls by anaerobic fungus *Anaeromyces mucronatus* 543. *CANADIAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY*. 2001, 47, s. 754-760.
- [169] GERBI, C., et al. Glycoside and polysaccharide hydrolase activity of the rumen anaerobic fungus *Caecomyces communis* (*Sphaeromonas communis* SENSU
-

- ORPIN) at early and final stages of the developmental cycle. *CURRENT MICROBIOLOGY*. May 1996, 32, s. 256-259.
- [170] OZKOSE, E., et al. *Cyllamyces aberensis* gen.nov sp.nov., a new anaerobic gut fungus with branched sporangiophores isolated from cattle. *CANADIAN JOURNAL OF BOTANY-REVUE CANADIENNE DE BOTANIQUE*. JUN 2001, 79, s. 666-673.
- [171] XL, LI; CALZA, RE. FRACTIONATION OF CELLULASES FROM THE RUMINAL FUNGUS NEOCALLIMASTIX-FRONTALIS EB188. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. NOV 1991, 11, s. 3331-3336.
- [172] HUIZHONG, Chen, et al. Two genes of the anaerobic fungus *Orpinomyces* sp. strain PC-2 encoding cellulases with endoglucanase activities may have arisen by gene duplication. *FEMS Microbiology Letters*. FEB 1998, 159, s. 63-68. Dostupný také z WWW: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-6968.1998.tb12842.x/full>>.
- [173] BASSAM, R.S. Ali, et al. Cellulases and hemicellulases of the anaerobic fungus *Piromyces* constitute a multiprotein cellulose-binding complex and are encoded by multigene families. *FEMS Microbiology Letters*. JAN1995, 125, s. 15-22.
- [174] FILLINGHAM, IJ, et al. A modular cinnamoyl ester hydrolase from the anaerobic fungus *Piromyces equi* acts synergistically with xylanase and is part of a multiprotein cellulose-binding cellulase-hemicellulase complex. *BIOCHEMICAL JOURNAL*. OCT 1999, 343, s. 215-224.
- [175] STEENBAKKERS, PJM, et al. An intron-containing glycoside hydrolase family 9 cellulase gene encodes the dominant 90 kDa component of the cellulosome of the anaerobic fungus *Piromyces* sp strain E2. *BIOCHEMICAL JOURNAL*. JUL 2002, 365, s. 193-204.
- [176] Biogas presentation. In: *Biogas plant design blog* [online]. 2011 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://bio-gas-plant.blogspot.com/2011/12/biogas-presentation-pdf.html>
- [177] Profil taxonu. In: *BioLib.cz* [online]. c 1999-2011 [cit. 2012-03-08]. Dostupné z: <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id339078/>
- [178] Dohányos M. a kol. (1998): *Anaerobní čistírenské technologie*. NOEL 2000 s.r.o., Brno.
- [179] C.G. Orpin. The rumen flagellate *Piromonas communis* life-history and invasion of plant material in the rumen. *J Gen Microbiol*, 99 (1977), pp. 107–117
-

- [180] Mohammad Rezaeian, Gordon W. Beakes, Abdul S. Chaudhry, Relative fibrolytic activities of anaerobic rumen fungi on untreated and sodium hydroxide treated barley straw in in vitro culture, *Anaerobe*, Volume 11, Issue 3, June 2005, Pages 163-175,
- [181] Pitter P.: Koncepce neutralizační kapacity v hydrochemii a technologii vody. *Chem. Listy* 93, 509-511 (1999).
- [182] Chander J.A., Jewell W.J., Gossett J.M., Van Soest P.J., Robertson J.B.: Predicting methane fermentation biodegradability. In *Biotechnology and bioengineering symposium*. No,10 John Wales and Sons, New York, 1980.
- [183] Converti A., Del Borghi A., Zilli M., Arni S., Del Borghi M. (1999): Anaerobi digestion of vegetable fraction of municipal refuses: mesophilic versus thermophilic conditions. *Bioprocess Engineering*, 21, 371-376.

Seznam tabulek

Tabulka č. 3.1: Celkový výkon bioplynových stanic podle výhledu akčního plánu	4
Tabulka č. 4.1: Charakteristika vybraných zemědělských surovin	11
Tabulka č. 4.2: Vybrané inhibitory	15
Tabulka č. 5.1: Složení bioplynu	36
Tabulka č. 5.2: Základní vlastnosti bioplynu a jeho jednotlivých složek	37
Tabulka č. 5.3: Specifický výnos bioplynu a obsah metanu	38
Tabulka č. 5.4: Výnos bioplynu a obsah metanu z kukuřičné siláže (průměr)	39
Tabulka č. 6.1: Složení vsázky z BPS Velké Albrechtice	53
Tabulka č. 6.2: Složení vsázky z BPS Velké Albrechtice	53
Tabulka č. 6.3: Průběh a výsledky experimentu č. 1 – Velké Albrechtice	56
Tabulka č. 6.4: Analýza vstupního substrátu a výstupu z technologie - experiment č. 1	57
Tabulka č. 6.5: Průběh a výsledky experimentu č. 2 – substrát BPS Klokočov	58
Tabulka č. 6.6: Analýza vstupního substrátu a výstupu z technologie – experiment č. 2	59
Tabulka č. 6.7: Průběh a výsledky experimentu č. 3 – Velké Albrechtice	61
Tabulka č. 6.8: Analýza vstupního substrátu a výstupu z technologie – experiment č. 3	62
Tabulka č. 6.9: Srovnání hodnot pH na vstupu a výstupu	66

Seznam obrázků

Obrázek č. 3.1: První vlak poháněný biometanem	6
Obrázek č. 4.1: Původ vhodných substrátů pro anaerobní digesce	8
Obrázek č. 4.2: Schématické znázornění struktury rostlinné stěny	12
Obrázek č. 4.3: Schéma struktury celulózy	13
Obrázek č. 4.4: Schéma struktury ligninu	14
Obrázek č. 5.1: Zjednodušené schéma procesu fermentace	18
Obrázek č. 5.2: Schéma procesu fermentace	21
Obrázek č. 5.3: „Suchá“ anaerobní fermentace	22
Obrázek č. 5.4: Schéma BPS se systémem „mokré“ fermentace	26
Obrázek č. 5.5 - Různé typy anaerobních reaktorů pro zpracování materiálů v suspenzi	28
Obrázek č. 5.6: Schématický průřez horizontálního fermentoru	29
Obrázek č. 5.7: Schématický průřez vertikálního fermentoru	30
Obrázek č. 5.8: Jednostupňový a dvoustupňový proces.	31
Obrázek č. 5.9: Teplotní rozdělení typů mikororganismů	32:
Obrázek č. 5.10: Důsledky nedostatku stopových prvků	35
Obrázek č. 5.11: Výpočet výhřevnosti bioplynu na základě obsahu hlavní složky – metanu	37
Obrázek č. 5.12: Teoretická výtěžnost vybraných druhů biomasy	39
Obrázek č. 5.13: Způsoby využití bioplynu.	40
Obrázek č. 5.14: Kogenerace	42
Obrázek č. 3.15: Využití bioplynu jako paliva	43
Obrázek č. 6.1: Anaerobní digesce v trávicím traktu skotu	48
Obrázek č. 6.2: Laboratorní fermentační reaktor s řídicí jednotkou	49
Obrázek č. 6.3: Plynojem	50
Obrázek č. 6.4: Laboratorní fermentační reaktor typu DCU 300	50
Obrázek č. 6.5: Laboratorní fermentační reaktor	51
Obrázek č. 6.6: Vyhřívání vzorků v termostatované skříni	51
Obrázek č. 6.7: Anaeromyces mucronatus KF8	54
Obrázek č. 6.8: Anaeromyces mucronatus v termoboxu	54
Obrázek č. 6.9: Plnění malých fermentorů 1.A a 1.B	55
Obrázek č. 6.10: Produkce bioplynu v závislosti na čase - substrát z Velkých Albrechtic	56
Obrázek č. 6.11: Obsah majoritních komponent na vstupu a výstupu experimentu č. 1	57
Obrázek č. 6.12: Produkce bioplynu v závislosti na čase - experiment č. 2	58

Obrázek č. 6.13: Obsah majoritních komponent na vstupu a výstupu experimentu č. 2	59
Obrázek č. 6.14: Fermentor se vzorkem BPS Albrechtice před přidáním anaerobních hub	60
Obrázek č. 6.15: Průběh produkce bioplynu v závislosti na čase . experiment č. 3	61
Obrázek č. 6.16: Obsah majoritních komponent na vstupu a výstupu experimentu č. 3	62
Obrázek č. 6.17: Fermentor DCU 300 se vzorkem BPS Klokočov před přidáním anaerobních hub	63
Obrázek č. 6.18: Srovnání výtěžnosti metanu [dm^3/l substrátu]	65
Obrázek č. 6.19: Srovnání výtěžnosti metanu [m^3/kg sušiny]	65